MYCOPATHOLOGIA

EDITORES:

R. CIFERRI et P. REDAELLI

Firenze Pavia

COLLABORATORES:

F. de Almeida, São Paulo — A. E. de Arêa Leão, Rio de Janeiro — R. Arima, Osaka — A. Azzi, Torino — I. Ballagi, Budapest — T. Benedek, Chicago — R. W. Benham, New York — K. B. Boedijn, Buitenzorg — A. Buschke Berlin — A. Carini, São Paulo — A. L. Carriòn, San Juan de Puerto Rico — A. Castellani, Roma — A. Catanei, Alger — N. F. Conant, Durham, N. C. — J. N. Couch, Chapel Hill, N. C. — C. W. Dodge, St. Louis, Mo. — C. W. Emmons, Washington, D. C. — G. Enderlein, Berlin — W. Engelhardt, Tübingen — G. Falchi, Pavia — O. da Fonseca, Rio de Janeiro — I. Froilano de Mello, Nova Goa (Indes Portugaises) — J. A. Gammel, Cleveland, Ohio — H. Gougerot, Paris — L. Grigoraki, Marseille — A. Guilliermond, Paris — F. C. Harrison, Montreal — A. T. Henrici, Minneapolis, Minn. — I. G. Hopkins, New York — R. St. John-Brooks, London — T. Kambayashi, Tokyo — J. E. McKinnon, Montevideo — O. de Magalhães Bello Horizonte — A. v. Mallinkrodt-Haupt, Köln — D. S. Martin, Durham, N. C. — S. Milochevitch, Beograd — M. Moore, St. Louis, Mo. — J. A. Nannfeldt, Upsala — P. Negroni, Buenos Aires — F. L. Niño, Buenos Aires — I. Ørskov, København — M. Ota, Tokyo — Pereira Filho, Porto Alegre — A. Pijper, Pretoria — G. Pollacci, Pavia — V. Puntoni, Roma — E. Rixford (†) San Francisco, Calif. — H. da Rocha Lima, São Paulo — A. Sartory, Strasbourg — R. Sartory, Strasbourg — F. J. Seaver, New York — R. V. Talice, Montevideo — F. W. Tanner, Urbana, Ill. — A. C. Ukil, Calcutta — I. Ch. Verbunt, Batavia — O. Verona, Pisa — S. A. Waksman, New Brunswick, N. J. — F. D. Weidmann, Philadelphia, Pa. — J. Westerdijk, Baarn.

VOLUMEN II

UITGEVERIJ Dr. W. JUNK — DEN HAAG — 1939-1940

VOLUMEN II:

Fasc. 1 edit.: 2. III. 1939.
Fasc. 2 edit.: 30. VII. 1939.
Fasc. 3 edit.: 26. III. 1940.
Fasc. 4 edit.: 21. V. 1940.

PRINTED IN HOLLAND
N.V. van de Garde & Co's Drukkerij, Zaltbommel.

CONTENTS: TABLE DES MATIÈRES: CONTENUTO: INHALT:

Pag.

H. A. Diddens and **J. Lodder**: An appeal for unification of the generic taxonomy in the Mycotoruloideae. (From the Centraalbureau voor Schimmelcultures at Baarn, Holland) 1

F. L. Niño: Contribucion al estudio de las Tricopatias Piedricas de Venezuela (con laminas I—V). (Inst. de Clin. Quir., Facult. Med., Buenos Aires). 7

P. Redaelli, R. Ciferri e **C. Cavallero**: Un'ipotesi sull'eterosmosi dei lieviti in rapporto alla dissociazione. (Istit. Anat. ed Istol. Patol., R. Univ. di Pavia ed Istit. Bot., Fac. Agrar., R. Univ. di Firenze). 12

H. A. Diddens and **J. Lodder**: On some sporogenous yeasts and their imperfect stages (with 3 figs.). (From the Centraalbureau voor Schimmelcultures at Baarn, Holland) 28

P. Redaelli and **V. Visocchi**: Agostino Bassi precursor of comparative mycopathology. (Istit. Anat. Patol., R. Univ. di Pavia and Istit. Bot., Fac. Agrar., R. Univ. di Firenze) 37

E. Vaccari, E. Baldacci e **R. Ciferri**: Osservazioni comparative sulle specie del genere *Malbranchea* (con la tavola VI). (Istit. Bot. e Labor. Crit. Ital., R. Univ. di Pavia ed Istit. Bot. Facol. Agrar., R. Univ. di Firenze) 43

G. Goidanich, R. Ciferri e **P. Redaelli**: Identificazione di alcuni lieviti isolati da pasta di legno. (Dalla R. Staz. Patol. Veget. di Roma, Istit. Bot. Facol. Agrar., R. Univ. di Firenze, Istit. Anat. Patol., R. Univ. di Pavia) 48

P. Negroni y **T. de Villafañe Lastra**: Micosis generalizada y mortal por *Trichosporon proteolyticum* n. sp. (con láminas VII—VIII). (Inst. Bact. del Dep. Nac. de Hig., Buenos Aires) 52

T. Morikawa: Ueber Dermatitis verrucosa cephalosporica (mit Tafeln IX—XI). (Aus der Dermat. Abt. d. Dermato-Urol. Klinik, Kais. Univ. zu Tokio) 60

Bibliographia mycopathologica I (1938) 68

R. Ciferri and **P. Redaelli**: *Mycotorula* vs. *Candida*: a plea. (From the Botanical Inst. Agric. Faculty, R. Univ. of Florenz and from the Inst. of Pathol. Anat., R. Univ. of Pavia) 73

G. B. Cottini: Un caso di „lingua nigra et pilosa" con isolamento di *Mycotorula Guilliermondi* (Cast.) n. comb. (con la tavola XII). (Dalla Clin. Dermatologica, R. Univ. di Catania) 75

O. Verona e **O. Malaguzzi-Valeri**: *Oidium albicans* Robin [*Mycotorula albicans* (Rob.) Lang. et Tal.] e *Monilia pseudotropicalis* Castellani [*Mycocandida pseudotropicalis* (Cast.) Cif. et Red.] (con una fig.). (Dall'Istit. di Patol. Veget. e Microb. Agrar. e dall'Istit. Clin. Pediatrica, R. Univ. di Pisa) 80

E. Baldacci: Introduzione allo studio degli Attinomiceti. (con le tavole XIII—XV). (Dal Laboratorio Crittogamico Ital. di Pavia) 84

W. H. Silbergleit e **P. Redaelli**: Colite algina da *Oscillatoria enterica* n. sp. ad interim, in una scimmia (*Cynocephalus hamadriadis*) (con le tav. XVI e XVII). (Dall'Istit. di Anat. Patol., R. Univ. di Pavia) 107

P. Redaelli, R. Ciferri e **C. Cavallero**: Sul presunto *Endomyces albicans* Vuill. (con le tavole XVIII—XIX). (Dall'Istit. di Anat. Patol., R. Univ. di Pavia e dall'Istit. Bot., Facoltà Agraria, R. Univ. di Firenze) 116

O. Verona: A proposito della unificazione dei generi delle „Torulopsidaceae-Mycotoruleae". (Dall'Istit. di Microbiol. Agrar., R. Univ. di Firenze) 122

I. Froilano de Mello et **L. A. Fernandes**: Onychomycose du medius et annulaire dûe à une levure du genre *Torulopsis* Berlese 1894. (Escola Medico-cirurgica de Nova Goa) . 124

J. E. Mackinnon: *Aspergillus terreus* Thom, parásito del hombre (con una figura). (Instit. de Hig. Exper., Sec. de Parasit., Montevideo). 127

O. Verona e **E. Baldacci**: Isolamento di schizomiceti cellulositici, attinomiceti, eumiceti dall'intestino delle termiti e ricerche sulla attività cellulositica degli attinomiceti (con la tavola XX). (Dall'Istit. di Microbiol. R. Univ. di Pisa e dal Labor. Crittogamico Ital di Pavia) 130

Bibliographia mycopathologica II (1938). 138

Pag.

E. Baldacci: Revisione delle specie: *Actinomyces albus, A. chromogenus, A. odorifer, A. thermophylus, A. viridis, A. viridochromogenes, A. hominis, A. innominatus.* (con le tavole XXI e XXII). (Dal Laboratorio Crittogamico Italiano di Pavia) 145

R. Ciferri e **P. Redaelli**: Segnalazione dello *Sporendonema epizoum* (Corda) Cif. et Red. su frutti di dattero in Libia. (Dall'Istituto Bot., Facoltà Agraria, R. Univ. di Firenze e dall'Istituto di Anat. Patol., R. Univ. di Pavia) 162

G. Luchetti e **N. di Molfetta**: Sulla presenza di miceti nella bile umana (nota preliminare). (Dall'Istituto di Patol. Veget. e Microbiol. agraria e tecnica e dall'Istituto di Patol. Spec. Chir., R. Univ. di Pisa) 164

A. L. Carrión: Estudio micologico de un caso de Micetoma por *Cephalosporium* en Puerto Rico. (Con láminas XXIII—XXIV). (Escuela de Medicina tropical, San Juan, Puerto Rico) 165

L. Grigoraki: Le Docteur Sabouraud (1864—1938). (Laboratoire de Parasitologie, Marseille) 171
Les Travaux du Dr. R. Sabouraud (1891—1937) 176

F. de Almeida: Study of a black grain mycetoma due to *Actinomyces paraguayensis* Almeida n. sp. (with plate XXV and XXVI). (Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo, Brazil) 201

A. Buschke und **B. Peiser**: Biologische und klinische Ausblicke der neueren Thallium-Forschung mit besonderer Beziehung zu den Haarpilz-Krankheiten 204

Libri Novi 212

Bibliographia Mycopathologica III (1938) 214

L. Semmola: Singolare reperto di *Sporotrichum Beurmanni* e di *Mycobacterium tuberculosis* in affezione nodulo-gommosa dell'arto superiore. (Dalla Clinica Dermosfilipatica, R. Univ., Firenze) 217

C. Cavallero: L'allergia e l'immunità nelle micosi. I°: Concetti generali sull'allergia. Metodi diagnostici dell'allergia. Allergia e immunità nelle Actinomicosi e Actinobacillosi. (Dall'Istituto di Anatomia Patologica, R. Univ., Pavia) 219

P. Redaelli e **R. Ciferri**: Ulteriori osservazioni su *Blastocystis* della rana e conferme della natura e posizione sistematica dell'Alga. (con le tavole XXVII, XXVIII e XXIX) (Dal Centro di Micologia umana e comparata, Istituto di Anatomia Patologica, R. Univ., Pavia) 239

Norman F. Conant: The taxonomy of the anascosporous yeast-like Fungi (From the Department of Bacteriology, Duke Univ. School of Medicine, Duke Hospital, Durham, N.C.) 253

T. Benedek: Critical survey of the mycological literature of the year 1938 (From the Laboratory of Mycological Research, Department of Dermatology, Northwestern Univ. Medical School, Chicago, Ill.) 267

C. W. Emmons: *Trichophyton mentagrophytes* (*Pinoyella simii*) isolated from dermatophytosis in the monkey (with plates XXX and XXXI). (From the Division of Infectious Diseases, National Institute of Health, U. S. Public Health Service, Washington, D.C.) 317

C. W. Emmons: Fumigation of mite infested cultures of Fungi. (From the Division of Infectious Diseases, National Institute of Health, U. S. Public Health Service, Washington, D.C.) 320

P. Redaelli, R. Ciferri and **E. Baldacci**: Blastomycosis, Sporotrichosis and Coccidioidal granuloma on animals and plants. (From the Istituto di Anatomia Patologica, Univ. of Pavia, Istituto botanico, Agraric. Faculty, Univ. of Firenze and R. Laboratorio Crittogamico Italiano, Pavia) 322

Bibliographia Mycopathologica (1939, I) 327

Index Nominum Mycetum 328

BIBLIOGRAPHIA MYCOPATHOLOGICA

I (1938) 2. III.1939 68
II (1938) 30.VII.1939 138
III (1938) 26. III.1940 214
I (1939) 21. V.1940 327

PLATES:	TAFELN: TAVOLE: PLANCHES:	Pag.
Tab. I—V.	**F. L. Niño,** Contribucion al estudio de las Tricopatias piedricas de Venezuela.	8
Tab. VI.	**E. Vaccari, E. Baldacci** e **R. Ciferri,** Osservazioni comparative sulle specie del genere *Malbranchea*	44
Tab. VII—VIII.	**P. Negroni** y **T. de Villafañe Lastra,** Micosis generalizada y mortal por *Trichosporon proteolyticum* n. sp.	56
Tab. IX—XI.	**T. Morikawa,** Ueber Dermatitis verrucosa cephalosporica	64
Tab. XII.	**G. B. Cottini,** Un caso di „lingua nigra et pilosa" con isolamento di *Mycotorula Guilliermondi* (Cast.) n. comb.	76
Tab. XIII—XV.	**E. Baldacci,** Introduzione allo studio degli Attinomiceti	96
Tab. XVI—XVII.	**W. H. Silbergleit** e **P. Redaelli,** Colite algina da *Oscillatoria enterica* n. sp. ad interim, in una scimmia (*Cynocephalus hamadriadis*) . . .	112
Tab. XVIII—XIX.	**P. Redaelli, R. Ciferri** e **C. Cavallero,** Sul presunto *Endomyces albicans* Vuill.	120
Tab. XX.	**O. Verona** e **E. Baldacci,** Isolamento di schizomiceti cellulositici, attinomiceti, eumiceti dall'intestino delle termiti e ricerche sulla attività cellulositica degli attinomiceti	136
Tab. XXI—XXII.	**E. Baldacci,** Revisione delle specie: *Actinomyces albus, A. viridis, A. viridochromogenes, A. hominis, A. innominatus*	152
Tab. XXIII—XXIV.	**A. L. Carrión,** Estudio micologico de un caso de Micetoma por *Cephalosporium* en Puerto Rico	166
Tab. XXV—XXVI.	**F. de Almeida,** Study of a black grain mycetoma due to *Actinomyces paraguayensis* Almeida n. sp.	168
Tab. XXVII—XXIX.	**P. Redaelli** e **R. Ciferri,** Ulteriori osservazioni su *Blastocystis* della rana e conferma della natura e posizione sistematica dell'Alga . . .	240
Tab. XXX—XXXI.	**C. W. Emmons,** *Trichophyton mentagrophytes* (*Pinoyella simii*) from dermatophytosis in the monkey.	320

Index Autorum:

Almeida F. de, 201.
Baldacci E., 43, 84, 130, 145, 322.
Benedek T., 267.
Buschke A., 204.
Carrión A. L., 165.
Cavallero C., 12, 116, 219.
Ciferri R., 12, 43, 48, 73, 116, 162, 239, 322.
Conant F. N., 253.
Cottini G. B., 75.
Diddens H. A., 1, 28.
Emmons C. W., 317, 320.
Fernandes L. A., 124.
Froilano de mello J., 124.
Goidanich G., 48.
Grigoraki L., 171.
Lodder J., 1, 28.
Lucchetti G., 164.
Mackinnon J. E., 127.
Malaguzzi-Valeri O., 80.
Molfetta N. di, 164.
Morikawa T., 60.
Negroni P., 52.
Nino F. L., 7.
Peiser B., 204.
Redaelli P., 12, 37, 48, 73, 107, 116, 162, 239, 322.
Sabouraud R., 176.
Semmola L., 217.
Silbergleit W. H., 107.
Vaccari E., 43.
Verona O., 80, 122, 130.
Villafañe Lastra T. de, 52.
Visocchi v., 37.

An appeal for unification of the generic taxonomy in the Mycotoruloideae

by

H. A. Diddens and J. Lodder.
(*From the „Centraalbureau voor Schimmelcultures" at Baarn, Holland*)

(12.IX.1938.)

„Si quid novisti rectius istis,
Candidus imperti; si non his utere mecum".
(Horatius, Epistolae 1,6,67 sq.)

1. Introduction

Though it will be thought quite unusual: mycologists flying a kite, we think it at this moment the very best thing to be done. How we come to this playgame, the following may explain.

After the study of the sporogenous yeast-cultures [1]) and of a part of the asporogenous ones, viz. those without a pseudomycelium [2]), present in the collection of the „Centraalbureau", had been finished, we set ourselves the task — about four years ago — to make a critical examination of the remaining cultures of asporogenous yeasts, i.e. of those which are able to form a pseudomycelium.

To this group belong in the first place many yeasts of real or supposed pathological significance, best known under the incorrect name „*Monilia*". A thorough revision of this group of organisms is longed for by every scientist who is regularly or occasionally working with them.

Secondly numerous organisms, isolated from widely divergent substrata, have to be included in the group to be studied. Only occasionally some species of these saprophytes have been adequately described; the greater part of them formerly was thought to belong to the *Torulopsidoideae* [3]), for lack of ability to form pseudomycelium. The new methods developed by Langeron and Talice [4]) and Rivalier and Seydel [5]) revealed their belonging to the *Mycotoruloideae*.

Until now both groups nearly always have been studied independently of each other. Yet it goes without saying that from a taxonomic standpoint it is utterly false to separate two groups of organisms merely on ground of their having a different habitat (pathogenic and non-pathogenic); evidently such organisms should be grouped together.

It will be obvious that workers in the „Centraalbureau" are in a very favourable

---

[1]) N. M. Stelling-Dekker, Die Hefesammlung des „Centraalbureau voor Schimmelcultures", I. Teil, Die sporogenen Hefen, Verh. Kon. Akad v. Wetensch., **28**, 148, 1931.

[2]) J. Lodder, Die Hefesammlung des „Centraalbureau voor Schimmelcultures", II. Teil, Die anaskosporogenen Hefen, Erste Hälfte, Verh. Kon. Akad. v. Wetensch., **32**, 1, 1934.

[3]) The name of the subfamily *Torulopsoideae* as it was used by Lodder, l.c., is an incorrect derivation from the generic name *Torulopsis*(*-idis*); the name of the subfamily ought to be *Torulopsidoideae*.

[4]) M. Langeron et R. V. Talice, Ann. d. Parasitol. hum. et comp., **10**, 1, 1932.

[5]) E. Rivalier et S. Seydel, Compt. rend. Soc. Biol., **40**, 181, 1932; Ann. d. Parasitol. hum. et comp., **10**, 444, 1932.

condition to undertake the revision necessitated by this consideration, as they have a large collection of cultures at their disposition which — though, of course, not a complete one — contains strains from all parts of the world, isolated from the most different substrata, many of them being the authentic strains on which the species diagnoses have been based.

The central position of such an international collection as the „Centraalbureau" is, involves on the other hand that one regularly — if not daily — is dealing with people asking for cultures or identifications of representatives of this still rather chaotic group of organisms. In trying to satisfy these manifold demands — for the greater part only just „asking for a name"! — it is an agonizing experience that one is so often unsuccessful in this task. This develops into a feeling of shame, when we add that one is almost happy to be able to place the organism in a genus of one of the many systems existing, whereas it must be thought as a real stroke of luck, when one succeeds in identifying an organism with a species described either in a separate publication or in a monograph.

Most of these demands are from medical workers or people dealing with problems in industry who have no time to spend, neither in studying thoroughly their cultures by extensive comparative experiments, nor in a prolonged search of literature. Especially these workers in practical fields want a simple clear system which gives within a relatively short time an unmistakable answer.

Thus we saw it as our principal aim to get a key of determination, based on simple methods, and dividing up on really distinct, stable characters.

The need for a better system has been felt by many other mycologists, so that in several institutes all over the world publications on this subject were and are issued, or work is still going on.

So just within fourteen days, three very important publications on the *Mycotoruloideae*, written by the very best known workers in this field of taxonomy, reached us, namely:

„A short general account for medical men of the genus *Monilia*" by A. Castellani [1]), „L'Oidium albicans" by R. Ciferri, P. Redaelli and C. Cavallero [2]), „Nouvelles recherches de zymologie médicale" by M. Langeron and P. Guerra [3]).

In the publications of „the French school", pioneers in studying these fungi with quite new methods, only one big genus, viz. *Candida* Berkh. is recognized.

The Italian authors give an excellent exposé of the taxonomic position of the important pathogen *Mycotorula albicans* (Robin) Lang. et Talice.

Castellani though sticking to the unacceptable generic name *Monilia*, is simplifying considerably his former division of this genus. He, moreover, separates the members of the genus into two subgenera: *Candida* Berkh. and *Geotrichoides* Lang. et Talice.

In realizing that our conception of the generic nomenclature varied again from these three different opinions of the most competent workers in this field of taxonomy, we feared the unity, so longed for, would still be far off for years and years.

Thus we came to the unusual act of flying this mycological kite, in giving — very shortly — our views with respect to the division into genera, before publishing the planned monograph.

---

[1]) A. Castellani, Journ. of Trop. Med. and Hyg. **40**, 1, 1937.

[2]) R. Ciferri, P. Redaelli e C. Cavallero, Mycopathologia, **1**, 115, 1938.

[3]) M. Langeron et P. Guerra, Ann. d. Parasitol. hum. et comp., **16**, 36—85, 162—180, 1938 (to be continued).

So this contribution is to be considered as a friendly challenge to mycologists, especially to those mentioned above, to express their criticism in a publication, in order to gain an unity in nomenclature, at least as far as regards the generic names.

Though there always will be left many incongruities between various workers on this subject, we think it of the utmost importance that a standard main subdivision will be accepted by all of them. May this short note together with the forthcoming published answers help to reach this ideal, for „*Union is strength*". A verbal discussion during the „Third International Congress for Microbiology" at New York in September 1939 might then offer the opportunity for arriving at a final conclusion.

2. The proposed generic subdivision of the Mycotoruloideae

Without going into a detailed discussion of the literature we give here a short account of the preliminary outcome of our considerations. We think it indicated to divide the *Mycotoruloideae* on morphological characters into two big genera: *Candida* Berkh. 1923 and *Trichosporon* Behrend 1890.

The former and principal genus is characterized by the presence of a pseudomycelium, with or without a true septated mycelium (the latter kind of mycelium only being present to a small extent), with blastospores in arrangements generally characteristic for each species; chlamydospores may be present. As there appeared to be many transitions between the ways in which the spores in the six genera formerly accepted by Langeron and Talice [1]) are arranged, we found it necessary to keep the organisms in question in one genus; this standpoint was also taken by Langeron and Guerra [2]) in their recent publications.

Only three generic names had to be seriously considered for this genus: *Syringospora* Quinquaud 1868, *Mycotorula* Will 1916 and *Candida* Berkhout 1923.

Quinquaud [3]) described rather clearly under the name *Syringospora Robinii* the organism formerly described by Robin (1853) [4]) as *Oidium albicans*. Quinquaud already pointed out that the generic name *Oidium* is to be conserved exclusively for the conidial stage of representatives of the *Erysiphaceae*, the group of fungi causing powdery mildew on various plants. The fact, however, that he also mentions endospores in *Syringospora Robinii* — though this may be due to an erroneous interpretation of his observations — justifies already the dropping of this generic name, as he may have dealt with a sporogenous yeast. This consideration is strongly brought to the fore by the three Italian authors.

Will [5]) in describing his genus *Mycotorula* emphasizes the absence of a true mycelium („.... niemals in ein unseptiertes, oder septiertes Fadenmycel übergehen ....", p. 275). Moreover, the blastospores are produced either in verticils, inserted at the apex of the pseudomycelium cells („wirtelförmig") or along the pseudomycelium. Such a *Mycotorula* is the *Mycotorula*, as it was understood by Ciferri and Redaelli [1929 [6]),

---

[1]) M. Langeron et R. V. Talice, l.c.
[2]) M. Langeron et P. Guerra, l.c.
[3]) M. Quinquaud, Arch. d. physiol., **1**, 290, 1868.
[4]) Ch. Robin, „Histoire naturelle des végétaux parasites qui croissent sur l'homme et sur les animaux vivants", Baillière, Paris, 1853.
[5]) H. Will, Centralbl. f. Bakt., u.s.w., II, **46**, 272, 1916.
[6]) R. Ciferri and P. Redaelli, Ann. Mycol., **27**, 243, 1929.

1935 [1]), 1938 [2])] and by LANGERON and TALICE [3]). This diagnosis, however, does not correspond to the wide limits we want to give to our genus.

In this respect we think the name *Candida* s. Berkhout [4]) far more suitable, as the diagnosis of BERKHOUT's genus, though somewhat vaguely formulated, leaves room for both pseudo- and true mycelium and also for varying ways of arrangement of blastospores. We cite here her diagnosis, translated from Dutch: „Few hyphae, prostrate, breaking up into shorter or longer pieces. Conidia, arising by budding from the hyphae or on top of each other, are small and hyaline." The description of the mycelium strikes one as being somewhat out of tune with regard to the representatives of the *Mycotoruloideae*, but one has to keep in mind that this description has been made in analogy to the diagnoses of other genera dealt with in her thesis, e.g. *Monilia* Gmelin. BERKHOUT's drawings moreover clearly show both types of mycelium.

It always will be felt as a drawback that the name *Candida* is an adjective used as a substantivum. However, although in Art. 25, Rec. X of the „International Rules of Botanical Nomenclature, Cambridge, 1930" it is recommended to avoid such a procedure, yet these rules do not strictly forbid it.

On the other hand it struck us as a happy symptom of progress in the rather conservative mycological world to notice that the name *Candida* s. Berkh. has gradually been adopted by many practical medical mycologists for their former „*Monilia*". So for instance in the „Review of Applied Mycology" the name *Candida* is always put in parentheses following *Monilia* (sensu med.).

Moreover LANGERON and GUERRA [5]) have also chosen the name *Candida* for their only large genus.

All these arguments induced us to accept BERKHOUT's generic name *Candida* for our principal genus [6]).

The second genus is characterized by the following: the presence of a pseudomycelium and a true mycelium with both blastospores and arthrospores; as a rule the true mycelium prevails; sugars never are fermented.

The essential characters, the presence of both blastospores and arthrospores, were unequivocally indicated in BEHREND's [7]) description of his species *Trichosporon ovoides* n. gen. n. sp. („.... die einzelnen Conidien in Form hefeartiger Sprossung weitere Coni-

[1]) R. CIFERRI e P. REDAELLI, Archiv f. Mikrobiol., **6**, 9, 1935.

[2]) R. CIFERRI, P. REDAELLI e C. CAVALLERO, l.c.

[3]) M. LANGERON et R. V. TALICE, l.c.

[4]) CHR. M. BERKHOUT, „De schimmelgeslachten Monilia, Oidium, Oospora en Torula", Diss. Utrecht, 1923.

[5]) M. LANGERON et P. GUERRA, l.c.

[6]) It has been a point of consideration whether this decision should imply a change of the name of the subfamily: *Mycotoruloideae* into *Candidoideae*. Art. 66 of the „International Rules of Botanical Nomenclature, Cambridge, 1930" does not apply here, since according to our proposal the genus *Mycotorula* is rejected and ceases to exist. On the other hand, the maintenance of the name *Mycotoruloideae* obviously conflicts with a strict interpretation of Art. 24, which article deals with the names of subfamilies. However, Art. 23 — which gives the corresponding regulations for the names of families — also allows a derivation of these names from those of „*former* genera". This makes it acceptable as not being against the spirit of Art. 24 to apply the same procedure to the derivation of the names of subfamilies. On ground of these considerations we thought it advisable to maintain for the moment the name *Mycotoruloideae*, a name which has found a rather wide application in later years.

[7]) G. BEHREND, Berl. Klin. Wochenschr., **27**, 464, 1890.

dien bildete; .... lange Kette stäbchenartiger oder ovoider Glieder bildete, die sich von den Conidien des Oidium lactis nicht unterscheiden ....").

For reasons of priority we accept this generic name instead of other synonyms of more recent dates, as: *Proteomyces* Moses et Vianna 1913 [1]), *Oosporidium* Stautz 1931 [2]), *Geotrichoides* Lang. et Talice 1931 [3]).

Langeron and Guerra [4]) seriously object to the placing of this genus in the *Mycotoruloideae*, because it possesses true arthrospores. After our opinion an equally serious objection can be raised against the classification of *Trichosporon* in Vuillemin's [5]) Order of the *Arthrosporeae*, since the fungi of this genus possess blastospores as well.

We consider *Trichosporon* as a transitional genus between *Candida* and *Geotrichum*. Transitions may be troublesome in taxonomy, but they are part of Nature and we have to classify them as well.

As moreover the proportion of both types of spores is very different in various species, we see no objection to our bringing *Trichosporon* into the subfamily we are dealing with .We have to admit, however, that such decisions essentially may be considered as a matter of taste.

The third solution, viz. that of establishing a special subfamily for this transitional genus, does not appeal to us.

The consequence of our standpoint is that in formulating the characteristics of the subfamily, the eventual presence of arthrospores should be added; this applies likewise to the chlamydospores.

As was pointed out in the definition we gave of *Candida*, we observed in the course of our study in many of the species some true mycelium (though often only to a small amount) beside the always present pseudomycelium.

Thus we wish to give the following diagnosis of the subfamily *Mycotoruloideae: „Pseudomycelium and besides in several species a true mycelium to a greater or lesser extent; blastospores, always present, arise from the hyphae in arrangements often typical for each species; chlamydospores or arthrospores may be present".*

3. Rejection of the idea of dividing up the genus Candida Berkh. into various smaller genera

It is self-evident that the genus *Candida* will contain several species distinguishable after their microscopical and morphological characters, and after their biochemical properties.

In comparing the appearances, morphological and physiological characteristics of the various species within this genus, it struck us that four salient „groups" were standing out. These groups were characterized by the following:

1. Pseudomycelium (sometimes accompanied by a septated true mycelium); blastospores of different form, e.g. round, oval, elongated, etc.; no formation of a pellicle on malt extract; the creamy or membranaceous appearance of the cultures never is flat and dull; fermentative power present or absent.

To this „group" which is a large one, belong many species, e.g.: *Candida albicans*

---

[1]) A. Moses e G. Vianna, Memor. d. Inst. Oswaldo Cruz, **5**, 192, 1913.
[2]) W. Stautz, Phytopath. Zeitschr. **3**, 163, 1931.
[3]) M. Langeron et R. V. Talice, l.c.
[4]) M. Langeron et P. Guerra, l.c.
[5]) P. Vuillemin, „Les Champignons parasites et les Mycoses de l'homme, Encyclopédie Mycologique, T. II, Lechevalier, Paris, 1921.

(Robin) Berkh., *Candida tropicalis* (A. Cast.) Berkh., *Candida parakrusei* (A. Cast.) Lang. et Guerra, *Candida pseudotropicalis* (A. Cast.) Basgal, etc.

2. Pseudomycelium (rarely accompanied by a septated true mycelium) with (for the greater part) cylindric blastospores; on malt extract a dull pellicle is formed; the cultures have a flat and dull appearance; either only glucose, fructose and mannose are fermented or the fermentative power is completely lacking. The main species of this „group" is *Candida Krusei.*

3. Pseudomycelium with oval or elongated blastospores; on malt extract and on ethyl alcohol medium a dry and dull pellicle is formed; the appearance of the cultures is at least partly a dull (often crinkled and powdery) one; fermentation of several sugars; development of a strong odour of fruit ethers; assimilation of nitrate and nitrite.

To this „group" belongs for instance *Candida pelliculosa* Red.

4. Pseudomycelium with differently shaped blastospores; the creamy cultures which never are dull soon get a yellowishy brown tinge, and stop growing probably due to an intensive production of acids; fermentation of several sugars.

To this „group" belong *Mycotorula intermedia* Krumbh. et Tauschanoff and several *Brettanomyces* species.

The four „groups" mentioned above have such outstanding features that they generally will not fail to be recognized at first sight, e.g.: „group" 4 after the typical change in colour occurring in the older cultures, „group" 3 after the delicious odour, pellicle formation and typical appearance, etc. etc.

We have to add that in giving here the characters of these four „groups", we should not like to say it should not prove possible to discern additional „groups".

These four „groups" were only mentioned, because we wanted to state that we at first felt inclined to look upon them as separate genera.

Our motive for not doing so is our conviction that the division into genera ought to be based on morphological characters only, and experience has amply taught us that it is impossible to carry through a separation on this basis.

For this reason we think it better to stick to one genus, *Candida*, with a relatively large number of species.

4. Closing remark

The foregoing is the mycological kite we fly. We have given here a condensed survey of the generic problems within the *Mycotoruloideae* together with the solution we thought the best one. We request kindly, but urgently, anyone who does not agree herewith to publish his criticisms and contrary views, in order to reach the badly wanted unity! ....

„Qui tacet, consentire videtur".

Contribucion al estudio de las Tricopatias Piedricas de Venezuela

por

Flavio L. Niño.

(*Instituto de Clínica Quirùrgica de la Facultad de Medicina de Buenos Aires*)

Con láminas I–V.

(25.VI.1938.)

La gentileza del distinguido Colega venezolano, Dr. Pedro del Corral, al cederme para éste estudio parte de su material de investigación, me ha permitido confirmar para el territorio venezolano — como ya lo fuéra para Colombia, Brasil y el nuestro — la existencia de dos tipos muy distintos de tricopatías piédricas: la que responde al tipo de nódulo negro producida por la *Piedraia Hortai*, y aquella otra de nódulos claros, rubios o grises, cuyo tipo sería la llamada „Piedra de Colombia" producida por el *Trichosporum giganteum*. En Venezuela, del Corral (1), ha estudiado una afección piédrica causada por un fitoparásito totalmente distinto de los anteriores, el *Trichosporum venezuelensis*, cuyos cultivos me han permitido confirmar los caracteres micológicos señalados por el autor en el trabajo ya citado. Brumpt y Langeron estudian los caracteres morfológicos de ésta espécie en los nódulos producidos sobre cabellos parasitados, describiendo áscos con cuatros 4 ascosporos, razón por la cual la clasifican como *Piedraia venezuelensis* Brumpt y Langeron, 1933. Lástima, sin embargo, que la carencia de cabellos parasitados no me permitan estudiar el comportamiento de éste hongo en su vida parasitaria, circunstancia por la cual no me he de ocupar de él con mayor detenimiento.

En el curso del mes de Diciembre del año 1935, recibí de manos del Dr. Vogelsang (recién llegado al país con la Misión Venezolana), el siguiente material que me era enviado por el Dr. del Corral, a quien me es grato agradecerle una vez más, la deferencia de que he sido objeto:

1) Pelos piédricos de nódulos negros por *Piedraia Hortai*;
2) Cultivos obtenidos de éstos mismos nódulos;
3) Pelos piédricos de nódulos rubios o grises aún no estudiados;
4) Cultivos obtenidos de éstos mismos nódulos sobre Sabouraud y papa glicerinada;
5) Cultivos del *Trichosporum venezuelensis*.

En éste trabajo sólo he de ocuparme con alguna detención del estudio micológico de los nódulos piédricos de color rubio o grís, principal motivo de ésta modesta colaboración.

De los nódulos piédricos de color negro, diré únicamente, que, por su estructura y conformación, por su color, por el aspecto microscópico del parásito en los nódulos recién iniciados y en los ya desarrollados, por la presencia de los quistes de Horta o áscos y de los cuerpos fusiformes flagelados o ascosporos, como pueden verse en las lamina I, fig. 1—5, estamos frente a una tricopatía piédrica por *Piedraia Hortai*, en un todo semejante a las observaciones efectuadas en el Brasil, Colombia, Paraguay,

Uruguay y entre nosotros, figuras que nos permitirán apreciar mejor las diferencias de ésta „Piedra" con la que estudiamos a continuación.

Tricopatía piédrica de nódulos claros rubios o grises

El material de estudio está representado por algunos cabellos parasitados procedentes de un paciente de Maracay, Estado de Aragua (Venezuela) recogidos en el mes de Junio de 1935, y por cultivos sobre SABOURAUD y papa glicerinada que me permitieron estudiar al hongo causante de este tipo de „Piedra" en su manifestación parasitaria — el nódulo piédrico —, como asímismo, sus caracteres culturales, morfológicos y biológicos hasta llegar a su clasificación definitiva.

Trátase de cabellos de color castaño, de buen grueso, no quebradizos pero presentándose algunos bífidos o hendidos a lo largo. Al tacto se aprecian en su trayecto, algunas durezas que son de volumen desigual. Con una lupa se ve que estas durezas corresponden a formaciones alargadas según el eje del cabello, de color amarillento o mejor rubio que dejan ver el pelo por transparencia, algunos de los cuales lo rodean en su totalidad como un „manchón" adquiriendo una forma ovoidea o de un pequeño barril que mide 350 $\mu \times 180 \mu$ (fig. 1 de la lámina II). — El nódulo piédrico está constituído — según permiten apreciar los preparados montados en jarabe de FOURE y en potasa cáustica al 40 % en caliente — por un mosaico de células fúnguicas incoloras, de forma redonda o ligeramente poliédricas, con aspecto artrosporado o blastosporado, cuya talla oscila entre 5—8 μ de diámetro para las formas redondas y 10—12 $\mu \times 4$—5 μ para aquellos de forma cuadrangular. En ningún caso fué posible observar formaciones quísticas ni ascosporos como los que se ven en los nódulos piédricos negros producidos por la *Piedraia hortai*. En preparados de cabellos tratados con la potasa cáustica al 40 %, se aprecia el parasitismo endógeno de los mismos por acúmulos o regueros de pequeños esporos, incoloros, redondos, que se disponen a lo largo de la substancia medular, siendo a veces tan intenso que recuerda el parasitismo de los dermatofitos endo-ectothrix, con disociación y bifidez del pelo parasitado (figs. 2—3 y 4 de la lámina II). — En sus comienzos el nódulo piédrico aparece constituído por un conjunto de pocas células redondas, poliédricas y cuadriláteras más o menos alargadas dispuestas en mosaico o en abanico, sobre la superficie del cabello. — No se aprecia substancia intercelular como en las piedras negras, y, por el contrario, se disocian con relativa facilidad después de la acción de la potasa cáustica. Mezclados a los elementos fúnguicos es posible ver formaciones baciliformes o cocóideas más o menos abundantes. Las células fúnguicas, incoloras, están provistas de una membrana de doble contorno no muy gruesa, (fig. 1 de la lámina III). Un carácter interessante en este tipo de tricopatía piédrica es el que muestra la figura 4 de esta misma lámina en la cual puede apreciarse una especie de astillamiento del pelo parasitado y la invasión del mismo por el hongo.

Caracteres culturales. Los cultivos sobre SABOURAUD y sobre papa glicerinada de 60 días de edad que he recibido, presentan los siguientes caracteres:

Cultivo No. 85 sobre SABOURAUD, constituído por colonias de color blanco-amarillento, de 0,5 ctm. de diámetro, aisladas, de superficie luciente, adherentes al medio, desproviastas de vello, húmedas y con un aspecto cerebriforme o en montón de vermes. El dorso de color blanco-amarillento, no presenta mayores particularidades. Cultivo sobre papa-glicerinada al 20 %, constituído por colonias de color café con leche, tiene un aspecto francamente irregular y cerebriforme con superficie en parte pelada y luciente y en parte cubierta por una especie de polvo blanco, tomando el conjuncto el aspecto de una pasa de higo blanco. Colonias adherentes al medio. Líquido enturbiado con abundante depósito en el fondo del tubo.

Enero 1° de 1936. Se repican estos cultivos sobre SABOURAUD glucosado y sobre papaglicerinada al 8 % que se incuban a la temperature del laboratorio (25° C.). A las 24 horas, se aprecia ya un marcado desarollo que se acentúa en los días siguientos de modo que, a los 3 días, las colonias con franco aspecto cerebriforme o en montón de vermes, presentan los caracteres ya señalados más arriba. A los 13 días de edad, las colonias desarrolladas sobre SABOURAUD glucosado ocupan todo el ancho del medio

Fig. 1.

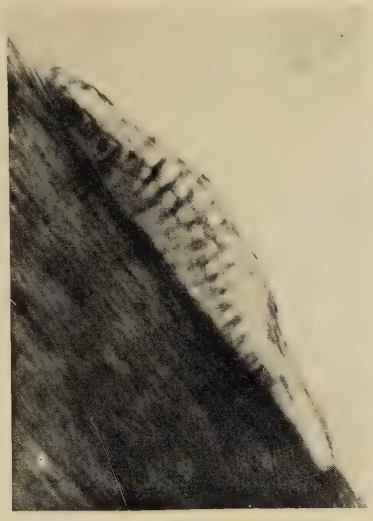


Fig. 2.

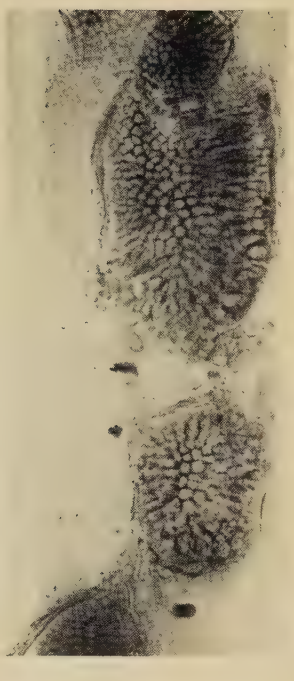


Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 1. Tricopatía piédrica de nódulos negros; material tratado al cloralactofenol (×40).
Fig. 2. Como arriba; varios nódulos jóvenes con aspectos morfologicos particulares (×120)
Fig. 3. Como arriba; desarrollo inicial de la piedra por debajo de la cutícola del pelo. (× 200).
Fig. 4. Como arriba; aspecto en mosaico presentado por las células fúnguicas. Material tratado con potasa cáustica al 40% en caliente. (×150).
Fig. 5. Como arriba; nodulo tratado al cloralactofenol. Los espacios mas claros corresponden a las formaciones quísticas o áscos de Horta. (×120).

Fig. 1.

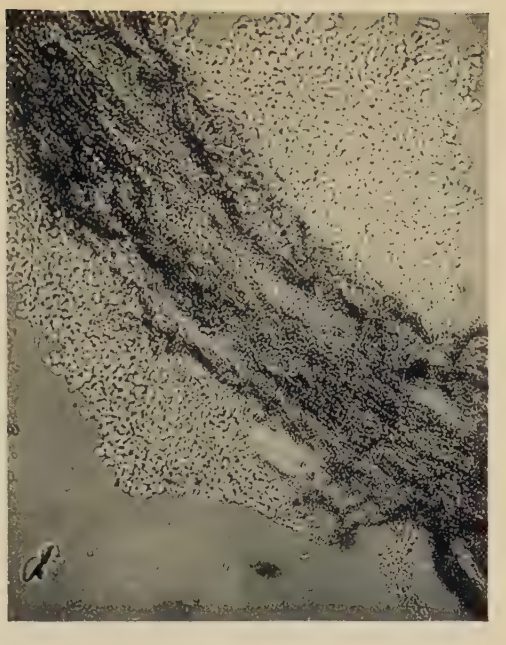


Fig. 2.

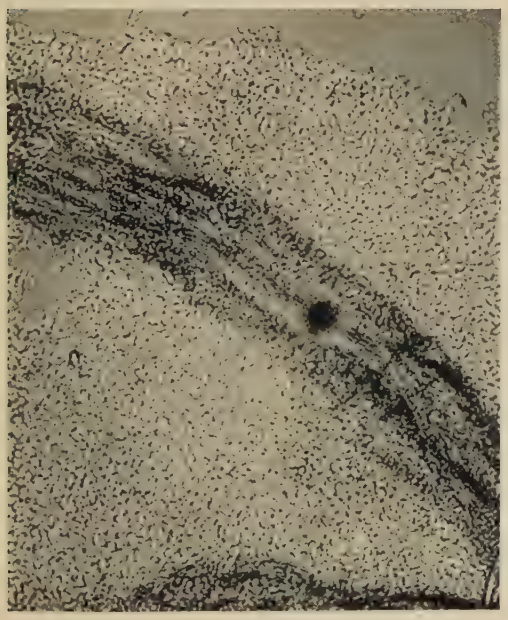


Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 1. Tricopatía piédrica de nódulos rubios o grises, montado en jarabe de Faure. (×180)
Fig. 2. Cabello y nódulo piédrico tratado con potasa caústica al 40 % en caliente mostrando el parasitismo endógeno y exógeno del hongo causante de ésta tricopatía. (×80).
Fig. 3. Imágen semejante a la anterior tomada con el mismo aumento. Material tratado en la misma forma.
Fig. 4. Cabello y nódulo piédrico tratado con potasa caústica al 40 % en caliente. (×150).

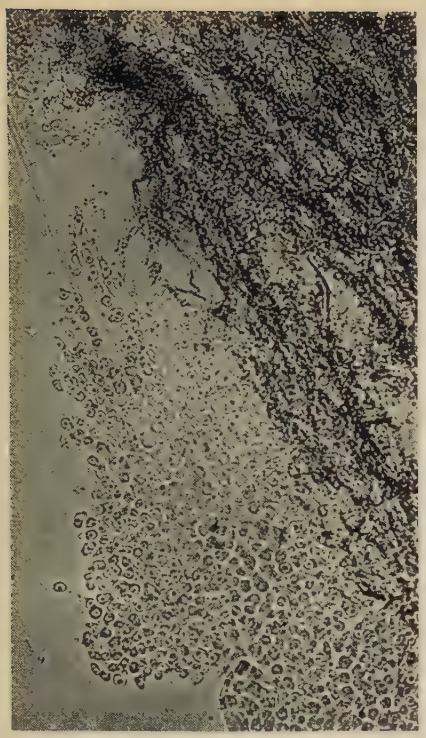


Fig. 1.

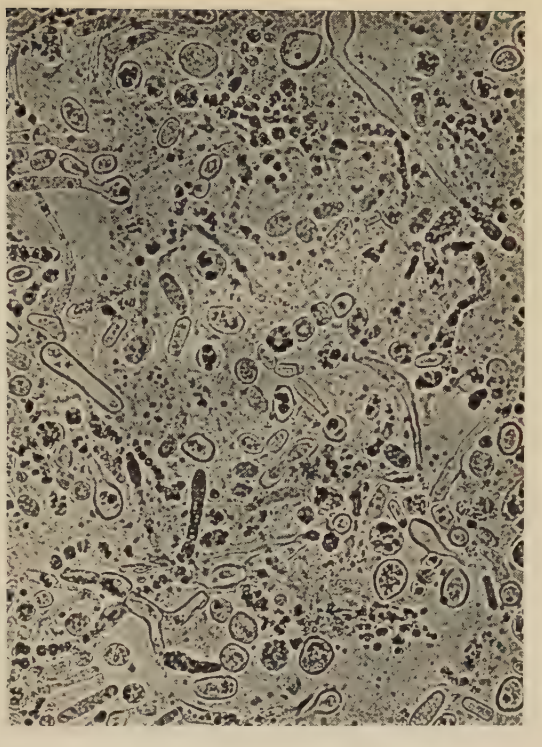


Fig. 2.

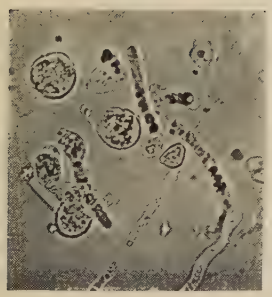


Fig. 3.

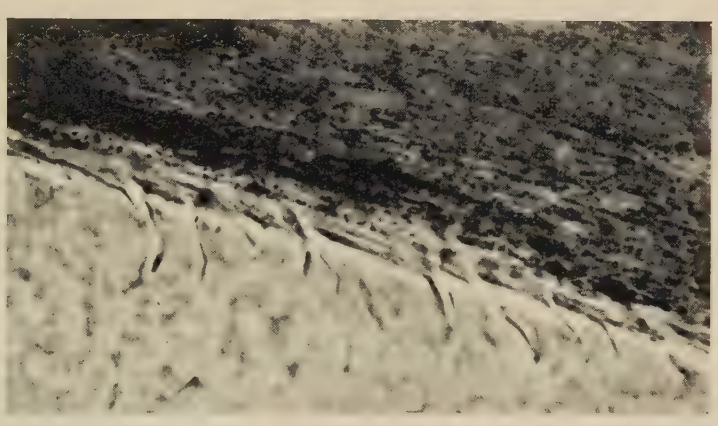
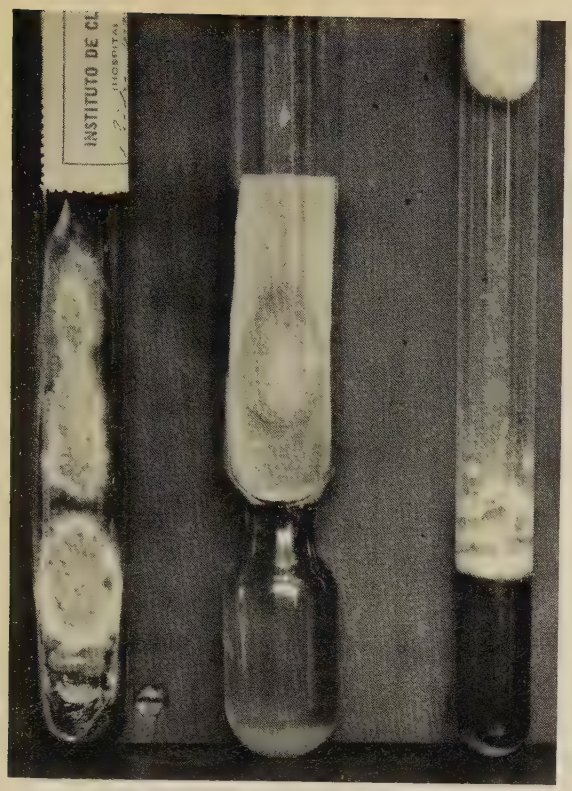


Fig. 4.

Fig. 1. Pelo y nódulo piédrico tratado con potasa caústica al 40 % en caliente, mostrando la morfología de las células parasitarias. (×120).
Fig. 2. Otro aspecto microscópico de un cultivo sobre Sabouraud glucosado. (Preparado fresco entre porta y cubre; × 130).
Fig. 3. Filamentos micelianos y clamidosporos en un cultivo sobre Sabouraud glucosado. (Preparado fresco entre porta y cubre; × 150).
Fig. 4. Pelo y nódulo piédrico montados en jarabe de Faure. Se aprecia el astillamiento de la cutícula del pelo y la penetración de los elementos parasitarios. (× 800).



a b c

Fig. 1.

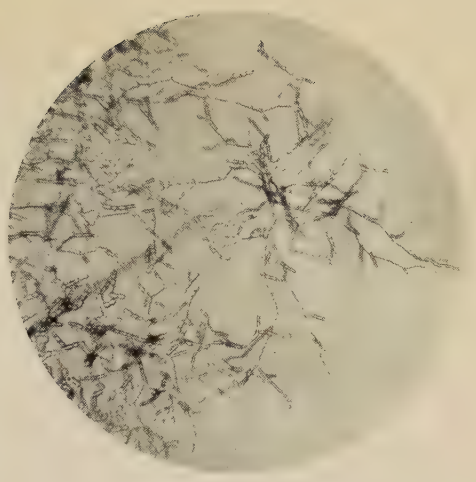


Fig. 3.

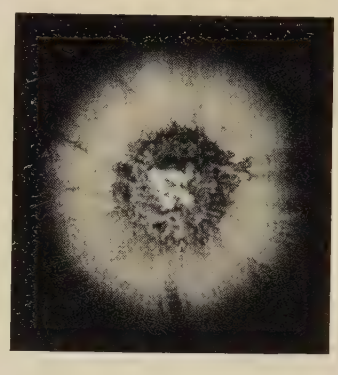


Fig. 2.

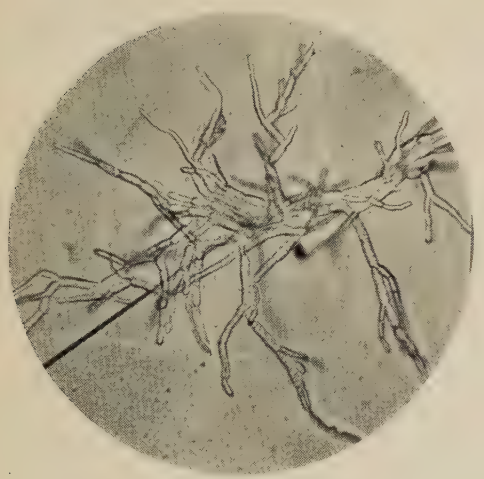


Fig. 4.

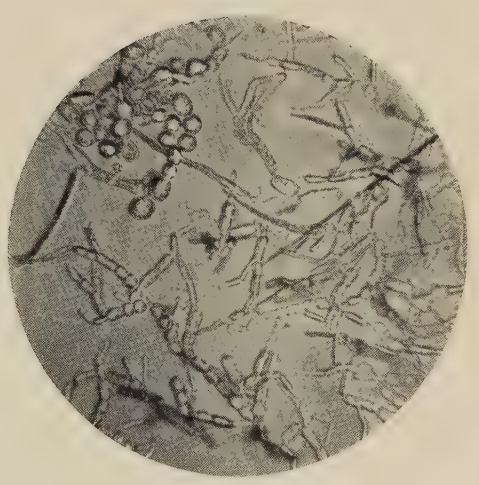


Fig. 5.

Fig. 1. *a*) Cultivo sobre Sabouraud glucosado de 13 días de edad. *b*) Cultivo sobre papa-glicerinada al 8 % de 1 mes de edad. *c*) Cultivo sobre agua peptonizada al 18 % y glucosada al 20 % de un mes de edad. (Figuras reducidas en $^1/_3$ del tamaño natural).
Fig. 2. Cultivo sobre Sabouraud glucosado en placa de Petri, de 16 días de edad .Colónia única de tamaño natural mostrando los caracteres macroscópicos descriptos para ésta espécie.
Fig. 3. Cultivo en gota pendiente de 24 horas de edad. (preparado fresco × 60).
Fig. 4. Cultivo en gota pendiente de 24 horas de edad. (× 120).
Fig. 5. Cultivo en gota pendiente de 48 horas de edad. (× 120).

de cultivo, presentando un típico aspecto cerebriforme que conserva en el curso de los días siguientes. A esta altura del desarollo las colonias se rodéan por una orla de hifas de color blanco, poco densa y dispuestas horizontalmente sobre la superficie del medio, como puede verse en la fig. 1, a) de la lámina V.

El cultivo sobre papaglicerinada, desarrolla más lentamente; tiene un aspecto cerebriforme o vermiforme franco, es de color blanco-amarillento, adhiere poco al medio al cual no pigmenta, tiene una superficie húmeda, no se rodéa por una corona de hifas y sólo al cabo de un mes ha adquirido un diámetro de 2 cmts. más o menos (fig. 1, b) la lámina V).

Enero 13 de 1936. Se siembra una placa de Petri con Sabouraud glucosado. A los 9 días, se observa una colonia que tiene 1,5 cm. de diámetro, presentando los caracteres ya señalados, de forma redonda, aspecto cerebriforme y levantada en el centro, rodeada por una amplia orla de hifas blancas dispuestas hirozontalmente. A los 16 días la colonia tiene un diámetro de 3 cm., conservando los caracteres morfológicos indicados y que pueden verse en la fig. 2 de la lámina V.

Enero 8 de 1936. Se siembra un tubo con agua peptonizada al 18 % y glucosada al 20 %, observándose a las 24 horas la formación en la superficie de una película blanca que por agitación se disgrega y queda flotando en copos. A las 48 horas se regenera la película que en gruesa, blanca, seca, ampliamente plegada, ocupa toda la superficie libre y remonta por las paredes del tubo (fig. 1, c) de la lámina V). El líquido queda límpido.

Enero 9 de 1936. Se siembra un tubo con leche, la cual no es coagulada ni peptonizada al cabo de un mes de observación.

Enero 8 de 1936. Cultivo en gota pendiente: A las 24 horas se observa el desarrollo de un micelio corto, ramificado y escaso, constituído por elementos articulados en forma de artrosporos o blastosporos, que partiendo de una célula madre se distribuyen radialmente (figs. 3 y 4 de la lámina V). A las 48 horas el desarrollo es más abundante y se observa la formación de clamidosporos intercalares en rosario como puede verse en la fig. 5 de la lámina V. A las 72 horas el desarrollo del hongo es tán intenso que ha agotado el médio de cultivo, conservando los caracteres ya señalados.

Caracteres morfológicos. En su vida parasitaria ya hemos visto que éste hongo se presenta con un aspecto blastosporado o artrosporado, por conjuntos de elementos redondos, cuadrilongos o poligonales por presión recíproca, siendo sus dimensiones de 5—8 μ de diámetre para unos y de 10—12 μ × 4—5 μ para otros. Elementos incoloros con membrana delgada de doble contorno y protoplasma homogéneo o ligeramente granuloso.

En cultivos de 60 días sobre Sabouraud glucosado, éste hongo se presenta con los siguientes caracteres: micelio delgado, flexuoso, poco ramificado, a veces con aspecto artrosporado con elementos de 15 μ de largo por 4—5 μ de ancho, con membrana de doble contorno y protoplasma homogéneo con uno, dos o más corpúsculos esféricos voluminosos, al parecer de naturaleza grasa, o bien, protoplasma ligeramente granuloso; otras veces — y es el aspecto más frecuentede observar — la continuidad del micelio está interrumpida por voluminosas formaciones esféricas dispuestas en cadenas, verdaderos clamidosporos que poséen gruesa membrana de doble contorno, protoplasma granuloso con o sin corpúsculos grasos, midiendo en término médio 10 μ de diámetro. Tienen una forma esférica en su mayoría, pero también los hay de forma elíptica y ovoide. Algunos de éstos clamidosporos presentan una o dos grandes gotas de grasa que llenan el interior de la célule parasitaria; otros están repletos de corpúsculos esféricos de tamaños uniformes y en número que pasa a veces de 20. La germinación de éstos clamidosporos puede apreciarse en algunas de las figuras de la lámina III, en forma de un mamelón que posteriormente se alarga y adelgaza. Las cadenas de clamidosporos pueden estar constituídas por 3-4-10 y más elementos dispuestos directamente el uno detrás del otro. Se observan también formas ramificadas. El Lugol tiñe a éstas células transitoriamente en amarillo, (Fig. 3 de la lámina III).

Sobre cultivos en papa glicerinada de 60 días de edad, anotamos los mismos caracteres morfológicos, pero en ellos predominan las formas atrosporadas con elementos de 10—20 y más micrones de longitud por 5—8 μ de ancho. Se tiñen transitoriamente en amarillo por el Lugol. Como en el caso anterior, se pueden observar elementos esféricos que pueden alcanzar a 20 μ de diámetro, llenos de corpúsculos igualmente esféricos (Lámina IV).

En los cortes de un cultivo sobre papa glicerinada al 8%, de 30 días de edad, se observa al hongo en estudio constituído por un micelio de espesor más o menos uniforme, ampliamente entrecruzado, compuesto por filamentos artrosporados y blastosporados, con dilataciones esféricas más o menos voluminosas en sus trayectos, es decir, clamidosporos intercalares de unos 8—10 μ de diámetro, (fig. 2 de la lámina IV). Los elementos celulares muestran en su estructura algunas masas cromáticas y un aspecto areolar del citoplasma. El hongo se desarrolla en la superfície del médio y se puede observar la penetración en su seno siguiendo los espacios intercelulares de la papa. Algunas formaciones voluminosas más o menos esféricas con contenido corpuscular podrían hacer pensar en la existencia de áscos y ascosporos. En algunos sítios del preparado y en el seno de la colónia, vénse acúmulos de corpúsculos con aspecto bacteriano, baciliformes o cocoides, semejantes a los descriptos por Juhel-Rénoy (3 y 4) en la Piedra de Colombia.

Caracteres tintoriales. Frotes de cultivos de 3 días de edad coloreados con Leishman, muestran los citoplasmas teñidos en azúl-acero dejando ver algunas vacuolas y algunos corpúsculos cromáticos de color rojo-rubí. Las membranas celulares no se tiñen.

Con la mezcla colorante de Guéguen, en frotes de cultivos de la misma edad, los elementos fúnguicos de coloréan en azúl intenso y en rojo-ladrillo, numerosas gotas de grasa por el Sudan III.

Clasificación

El estudio parasitológico y micológico realizado nos permite clasificar al hongo productor de la tricopatía piédrica de nódulos rubios o grises de Venezuela, como *Trichosporum giganteum* Behrend, 1890; con la aclaración de que sí consideramos las lesiones pilares evidentes y semejantes a las observadas en el caso por mí estudiado con Mazza (7), deberíamos clasificar a éste parásito como *Trichosporum humahuaquensis* Mazza y Niño, 1932.

Si comparamos el estudio realizado con las descripciones que han dado Behrend (2), Juhel-Rénoy (3), Juhel-Rénoy y Lion (4), y Desenne (5), para la llamada „Piedra de Colombia" y su agente productor el *Trichosporum giganteum*, concluiremos en la identidad de éstos parásitos y ello no nos ha de sorprender sí pensamos que la tricopatía piédrica de nódulos claros, rubios o grises ha sido encontrada por Peña (6), en el Brasil y por nosotros (7), en la Argentina, en una enferma de la Quebrada de Humahuaca en la Provincia de Jujuy, y, sí en ésta oportunidad concluíamos en la existencia de una posible nueva espécie de *Trichosporum*, a pesar de su identidad micológica con el parásito de la „Piedra de Colombia", era debido a las lesiones evidentes que se observaban no sólo en la cutícula del pelo sí que también en la substancia interna del mismo, presentando un parasitismo endógeno además del exógeno, con bifidéz y aspecto astillado del cabello, es decir, lesiones en un todo semejantes a las que hemos tenido oportunidad de ver en el material venezolano que estudiamos. Sobre la ausencia de lesiones tanto cuticulares como parenquimatosas de los cabellos parasitados por el *Trichosporum giganteum* han insistido especialmente Juhel-Rénoy, Lion y Desenne en sus comunicaciones, repitiéndose ésta afirmación en todos los tratados que se ocupan de éste tema. Sin embargo, sí se examina la figura 1 del trabajo de Behrend titulado „Ueber Tricomycosis (Juhel-Rénoy); Piedra (Osorio)" del año 1890, nos llamará la atención la semejanza de las alteraciones de los pelos representados en dicha figura con las que diéramos en oportunidad del publicado conjuntamente con Mazza; en cuyo caso *Trichosporum humahuaquensis* Mazza y Niño, 1932 caería en sinonímia de *Trichosporum giganteum* Behrend, 1890.

Conclusiones

1°. Existen en Venezuela como en Colombia, Brasil y Argentina une tricopatía piédrica de nódulos negros producida por la *Piedraia Hortai* y una tricopatía piédrica de nódulos rubios semejante a la llamada „Piedra de Colombia".

2°. Micológicamente, ésta última se identifica con el *Trichosporum giganteum* Behrend, 1890 y por las lesiones pilares con el *Trichosporum humahuaquensis* Mazza y Niño, 1932.

3°. Sí se demostrara en la „Piedra de Colombia" análogas lesiones en los pelos parasitados a las que hemos encontrado en el material venezolano y a las estudiadas en el caso publicado con Mazza, *Trichosporeum humahuaquensis* Mazza y Niño, 1932 caería en sinonímia de *Trichosporum giganteum* Behrend, 1890.

Summary

In Venezuela, as in Colombia, Brazil and Argentine, two trichopathies of the „piedra" type were found, namely one with black knots, caused by *Piedraia Hortai*, and another with light-coloured knots, the so-called „Colombian piedra". The last named trichopathy is caused by *Trichosporium giganteum* Behrend, 1890, not causing hair lesions, and by *T. humahuaquensis* Mazza et Niño, 1932, causing hair lesions; but it is possible that both species are referable to the same taxonomic entity.

Bibliografía

1) Pedro del Corral, (Extraído) Revista de Medicina y Cirugía de la Clínica Maracay. Maracay (Diciembre de 1934). — 2) Behrend, G. von, Berliner Klinische Woch. (26 de Mayo de 1890), 3 figs., 464. — 3) Juhel-Rénoy, E., Annales de Dermatologie et Syphilographie, 1 lam, 777 (1888). — 4) Juhel-Rénoy, E. et Lion, G., Annales de Dermatologie et Syphilographie, 2 lams., 765 (1890). — (5) Desenne, E., C. R. de l'Academie des Sciences, 34 (1878). — 6) Peña, P., Rev. Medico-Cirurgica do Brasil, 29 (7), 2 lams., 217 (1931). — 7) Mazza, S., y Niño, F. L., Octava Reunión de la Sociedad Argentina de Patología Regional del Norte (Santiago del Estero, Oct. de 1933). Imprenta de la Universidad de Buenos Aires, 293, 34 figs., 4 lams. (1934).

Un' ipotesi sull'eterosmosi dei lieviti in rapporto alla dissociazione

per

P. Redaelli, R. Ciferri e C. Cavallero.

(*Istituto di Anatomia ed Istologia Patologica della R. Università di Pavia; Istituto di Botanica della Facoltà di Agraria, R. Università di Firenze*)

(3.VII.1938,)

Se lo studio delle cosidette „dissociazioni" nei microorganismi, che da circa vent'anni ha preso posto nella scienza, è tutt'ora in piena evoluzione, il materiale sperimentale accumulato permette alcune conclusioni che sembrano essere solidamente stabilite. Nelle sue linee generali la dissociazione nei lieviti, oggetto di un numero molto minore di studi che l'analogo fenomeno negli schizomiceti, non sembra essere differente da questo: anzi la dissociazione nei lieviti mostra una maggiore schematizzazione dei fatti che va tutta a vantaggio della sua comprensione.

Senza richiamare i precedenti storici dell'argomento, e limitatamente ai lieviti (in particolare ai lieviti asporigeni, come la *Mycotorula albicans* che ne è stato il soggetto preferenziale di studio), rimandiamo alla pubblicazione di uno di noi (Cavallero, 1938) limitandoci alla constatazione dei risultati acquisiti, i quali, nel loro insieme, possono riassumersi in questo modo:

1) L'interconvertibilità (sotto condizioni propizie) della fase „R" nella fase „S" e viceversa, attraverso una serie più o meno transitoria di forme intermediare „RS" o „SR".

2) La manifestazione del fenomeno, evidente attraverso modificazioni delle caratteristiche culturali, è correlata a modificazioni della micromorfologia degli elementi fungini, delle attività biochimiche (incluse le prove di agglutinazione aspecifica e dell'attività patogenetica) e di quelle patogenetiche.

3) Tali correlazioni non sono obbligate, potendosi ottenere sia la conversione della fase „R" alla fase „S", o viceversa, senza ulteriori modificazioni micromorfologiche o nelle attività biochimiche o patogenetiche, oppure modificazioni di questo genere senza l'apparizione di colonie dell'una o dell'altra fase. Ciononostante la regola è che le modificazioni vadano in parallelo.

4) La dissociazione si opera a mezzo di incitanti di varia natura (fisici, chimici, culturali o fisico-chimici e biologici, inclusi i sierologici); allo stato attuale delle nostre conoscenze bisogna ammettere che le cosidette „dissociazioni spontanee" siano in realtà dovute ad incitanti casuali la cui natura ci sfugge.

5) Al cessare dello stimolo incitante, si ha la tendenza più o meno manifesta al ritorno verso la fase „normale" del fungo, intendendo per normale quella che si osserva di consueto sotto condizioni ordinarie di cultura. Tale regressione si effettua con rapidità varia e talvolta con lunghe permanenze nella fase d'acquisizione o in fasi intermediarie. Tutto ció è meglio manifesto se l'incitamento è stato provocato mediante stimoli artificiali e quindi sotto condizioni note.

6) Per quanto sia piuttosto difficile indicare nel loro insieme le attitudini globali dei lieviti in ognuna delle due fasi (date le diverse condizioni di sperimentazione nelle

quali si è lavorato), quasi tutti gli Autori concordano nell'affermare che il micete in fase „S" mostra il massimo delle sue attività biochimiche e biologiche, mentre gli aspetti culturali e micromorfologici sono più uniformi. Inversamente per il micete in fase „R" si ha una riduzione nelle caratteristiche biochimiche e biologiche ed una maggiore complessità (per forma e dimensione degli elementi) nella micromorfologia e nelle caratteristiche culturali.

Poichè gli studiosi del fenomeno della dissociazione nei batteri e nei lieviti non si sono preoccupati di inquadrare il fenomeno nel grande insieme delle fluttuazioni dei microorganismi, per una maggiore e migliore comprensione del fenomeno stesso ci pare opportuno cercare i rapporti di questo con il complesso dei fatti di variabilità e di mutazione studiati nei funghi con micelio da micologi puri e da fitopatologi.

Il problema si può impostare subito in questo modo: in quali rapporti stanno i fenomeno dissociativi dei lieviti asporigeni di fronte ai fatti di variabilità degli altri miceti? E, ammesso che vi sia un rapporto, le teorie emesse per spiegare tali fenomeni nei miceti con ife possono essere estese anche ai lieviti asporigeni? Cercheremo di rispondere a queste due domande in base ad una sommaria documentazione bibliografica sugli argomenti.

Una questione preliminare sorge spontanea: il fenomeno della dissociazione nei lieviti in quale categoria di „variazioni" (in senso lato) può rientrare? Non intendiamo affatto entrare nella discriminazione dei significati di „variazione", problema che ha fatto versare non poco inchiostro con forse ben scarso profitto, dato non solo il significato differente e plurimo di „variazione" in senso genetico ed in senso ecologico, ma anche per le parziali interpretazioni limitate ai ristretti campi di investigazione degli specialisti per ognuno dei singoli gruppi di esseri viventi; parafrasando una frase di Hugo de Vries si potrebbe affermare che il significato della parola „variabilità" à tanto diverso quando lo è l'essenza del fenomeno. Astraendo da ogni significato parziale, con la maggior parte degli Autori indichiamo con „variabilità" (in senso lato) ogni possibile deviazione di un essere dal tipo medio arbitrariamente scelto come primitivo, indipendentemente dalle cause che le hanno provocate, dalle manifestazioni che le accompagnano e dalla portata delle deviazioni stesse. Come „fluttuazione" (variabilità in senso stretto) intendiamo invece le modificazioni a carattere transitorio quali ci appaiono nel limite di durata dell'osservazione, e senza trasmissione ereditaria; le fluttuazioni sono quindi delle oscillazioni intorno al tipo medio scelto come normale e che tendono verso esso. Purtroppo una definizione di questo genere non è molto soddisfacente, ma si contrappone bene a quello di „mutazione", modificazione brusca istantanea provocata da una causa qualsiasi nota od ignota, volta verso direzioni impreviste, con caratteri di ereditarietà e perfettamente stabile nei limite di durata dell'osservazione, cioè senza ritorno alla forma scelta come normale o di partenza. E' a quest'ultima categoria che si debbono riferire le variazioni brusche dei miceti spesso indicate col nome di „saltazioni" con le loro numerose varietà culturali: mutazioni settoriali od a ventaglio, mutazioni a macchia, mutazioni marginali, mutazioni totali, mutazioni alternanti o concentriche, mutazioni di senescenza, mutazioni di colore, ecc. nonchè tutte le innumeri varietà mutazionali in cui si modificano i rapporti quantitativi tra micelio immerso, micelio aereo, organi di riproduzione e loro diversi tipi, ecc. Le caratteristiche comuni a tutte le „mutazioni"

sono: *a*) irregolarità della loro comparsa che non può subordinarsi „a priori" a nessuna regola, salvo un certo orientamento generale nella frequenza se provocate per incitamenti artificiali; *b*) una notevole instabilità dei ceppi mutati in quanto la tendenza a mutare non si spegne con la mutazione, ma prosegue, più o meno attenuata, nelle generazioni successive. Il ceppo mutato può anche, eventualmente, mutare nuovamente nella direzione opposta alle prima saltazione, e quindi ritornare verso il tipo normale o di partenza; ma in generale muta in una nuova e differente direzione. La direzione della mutazione pare solamente subordinata ad una frequenza statistica, per cui una nuova mutazione nel senso opposto a quella primitiva (il che equivale all'annullamento della mutazione stessa attraverso una duplice saltazione) ha la stessa probabilità di accadere di ogni mutazione in ogni altra possibile direzione; *c*) una mancanza di correlazione tra i ceppi mutati derivati da uno stesso ceppo normale primitivo, e per conseguenza l'assenza di una direzione d'insieme delle mutazioni. In conclusione, la mutazione potrebbe „grosso modo" paragonarsi ad un'onda modificatrice subitamente generata, onda la cui spinta non si spegne che gradatamente nelle generazioni successive. Così intesa la mutazione comprende anche il fenomeno detto di „saltazione".

Le caratteristiche del fenomeno mutazionale, dunque, non corrispondono a quelle del fenomeno della „dissociazione"; come infatti abbiamo visto in precedenza la „dissociazione" è caratterizzata da un'oscillazione tra i due poli opposti della fase „R" e della fase „S" con una fase od una serie di fasi intermediarie (e raramente una fase abnorme o fase „M" che però appare comprendibile tra le due fasi estreme). Il passaggio dall'una all'altra fase non sembra si effettui repentinamente, anche se in qualche caso le fasi intermediarie vertono tanto rapidamente l'una nell'altra da darne l'impressione. Il ceppo dissociato può stabilizzarsi in una delle due fasi, ma generalmente regredisce con velocità varia verso la fase di partenza cosicchè la marcia del fenomeno è inversa a quelle iniziale come senso, ma ha la stessa direzione; non si è mai dato il caso che il ceppo dissociato abbia presentato una variazione in un senso nuovo diverso dalle fasi „R" od „S" od intermediarie. Infine la dissociazione porta spesso ad una concomitanza di modificazioni; pur essendo possibile la variazione di uno solo dei caratteri, in generale la variazione è plurima e simultanea interessando caratteristiche culturali, morfologiche, biochimiche e patogenetiche. Insomma, nella sua più tipica espressione, la dissociazione è una „variazione a fascio" interessante caratteristiche più o meno correlate fra di loro. L'unica eccezione che conosciamo nei lieviti asporigeni è la comparsa in un ceppo dissociato di *Mycotorula albicans* (Cavallero, 1937 e 1938) di una caratteristica fermentativa sino allora non segnalata in questa specie: la fermentazione del saccarosio. Ma conosciamo troppo poco i rapporti che legano tra loro le attività enzimatiche (e più particolarmente quelle zimasiche) per poter assegnare uno speciale valore a questa osservazione, tanto più in quanto la fermentazione del saccarosio pare riferibile (per i ceppi fermentanti i monoesosi) ad una più attiva formazione e messa in libertà di saccarasi, a sua volta legata forse a fatti di vitalità delle cellule.

Dopo ciò siamo in condizioni di affermare che la dissociazione nei lieviti asporigeni non è in alcun modo riferibile al fenomeno della „mutazione" dei funghi: *la „dissociazione" rientra per conseguenza nelle fluttuazioni ossia nelle variazioni non mutazionali*, le quali, in base alle prove sperimentali accumulate, paiono generarsi più o meno lentamente sotto l'influsso di condizioni di vita anormale con caratteri di instabilità e tendenza alla regressione allorchè le condizioni di vita ritornano normali.

Per quello che si sa la frequenza delle variazioni spontanee nei funghi diversi dai lieviti (e più specialmente delle „mutazioni"), e molto varia [1]). A parte una frequenza nulla segnalata da Barnes (1931) per l'*Eurotium herbariorum*, la frequenza minima sarebbe stata riscontrata da Gassner e Straib (1932) per una cultura monosporica di *Puccinia graminis tritici* in cui essa sarebbe dell'ordine del 0,001% e meno; altri Autori danno cifre leggermente maggiori per altre specie fungine ma sempre piccole. Così Blakeslee (1920) per il *Mucor genevensis* indica il 0,02%; Schiemann (1912) per l'*Aspergillus niger* il 0,5%; ecc. Però a lato di specie a bassa frequenza di variabilità spontanea, ve ne sarebbero altre con una marcatissima tendenza opposta; così, secondo Cotter (1934), la stessa *Puccinia graminis* avrebbe una variabilità del 21%. Il massimo è stato registrato nelle osservazionei di Stakmann „et al." (1929) sull'*Ustilago zeae* che in una sola cultura monosporica avrebbero ottenuto ben otto mutazioni settoriali. Questo stesso Autore ha dimostrato pure che le discendenze di due culture monospore si comportavano differentemente nella frequenza di mutanti, avendone prodotto l'una 70 e l'altra 162.

Altrettanto vario è il rapporto tra „variazioni" dei miceti e modificazioni del mezzo ambiente: date le numerosissime esperienze eseguite con gli stimoli più differenti su molte specie, e basate sull'analisi di caratteri varianti differenti, è difficile riassumere le nostre conoscenze. Senza entrare in dettagli superflui al nostro scopo (tanto più che molto Autori non hanno chiaramente distinto le fluttuazioni dalle mutazioni) basterà accennare al fatto che uno dei mezzi più comunemente usati per indurre variazioni nei miceti è quello di modificare il substrato culturale, sia nel senso di squilibrarlo in riguardo alle necessità nutrizionali del fungo (per eccesso o per difetto di uno o più degli elementi nutriviti) sia per l'addizione di sostanze a carattere ostile verso il micete. In linea generale un substrato nutritivo squilibrato per carenza o per eccedenza di uno dei suoi componenti necessari alla normale vita del micete porta a modificazione (fluttuazioni e mutazioni) tanto più accentuate e frequenti quanto meno favorevole è il mezzo di cultura sperimentato. Questo risulta bene da tutta una serie di lavori di Leonian (1925) su *Phytophtora*, di Christensen (1925) su *Helminthosporium*, di Stakman „et al." (1929 e 1933) su *Ustilago*, di Das Gupta (1930) su *Cytosporina* e *Diaporthe*, di Vasudeva (1930) su *Fusarium*, di Sundaraman (1933) su *Collectotrichum*, di Paxton (1933) su *Helminthosporium*, di Padwik (1936) su *Ophiobolus* ed altri numerosi studiosi. Ma le variazioni sono molto più frequenti quando nel substrato nutritivo sono presenti delle sostanze a carattere ostile (generalmente a potere tossico) verso il micete, o quanto meno non favorevoli alla normale vita dello stesso. Tra le molte sostanze impiegate a questo scopo ricorderemo i vari sali di zinco usati di Dimock (1936) per un *Fusarium* e da Sibilia (1934) per un *Heterosporium*; il salicilato sodico impiegato da Galloway (1933) per l'*Aspergillus terreus*, il bicromato potassico usato da Schiemann (1912) per l'*Aspergillus niger*, l'acido ossibenzoico usato de Waterman e tutta una serie di sostanze impiegate da Haenicke (1916) per diverse specie fungine.

Uno stimolo frequentemente impiegato è quello che si ha a mezzo di modificazioni della temperatura di crescita del fungo; quì le affermazioni sono però contradditorie. Per qualche Autore, come Christensen (1925) per *Helminthosporium*, Stakman „ed al." (1929) per *Ustilago*, Mitra (1931) e Heynes (1935) per *Helminthosporium*, Padwick (1936) per *Ophiobolus*, ecc., la massima frequenza nelle variazioni si avrebbe alla temperatura ottima di crescita del fungo. Invece per Schiemann (1912) su *Aspergillus*, Barnes

[1]) Per maggiori dettagli sull'argomento vedi i recenti studi riassuntivi di Barnes (1935), di Stakmann (1936) e di Das Gupta (1936).

(1928, 1930 e 1931) su *Eurotium*, *Botrytis* e *Thamnidium*, TANAKA (1933) su altri miceti, ecc., le alte temperature sono un fattore di attiva induzione di variazioni. Anzi, per i due ultimi Autori che più lungamente hanno sperimentato su questa questione, pur con numerose irregolarità ed attraverso una gamma molto varia di reazioni, la massima temperatura compatibile con la vita dei conidi nei miceti induce, di regola, il massimo delle variazioni. E' interessante notare che l'influenza delle alte temperature appare evidente sui funghi a riproduzione conidica; su specie producenti ascospore, come hanno osservato DEAN e BROOKS (1932) su *Pyronema* e DIKSON (1932 e 1933) su *Chaetomium* non sono mai apparse mutazioni.

Non meno ampio è stato il campo di lavoro con le radiazioni quali eccitanti alle variazioni nei miceti, con risultati però non troppo concordi. Volendoli riassumere brevemente, le onde di maggior lunghezza (herziane, infrarosse e dello spettro luminoso) o non influenzano affatto i funghi o generano delle transitorie e poco importanti fluttuazioni. Non altrettanto si ottiene con raggi ultravioletti che generano fluttuazioni bene evidenti ed anche mutazioni, come ha accertato STEVENS (1928—1930) su vari funghi. Di maggiore efficacia ancora si sono mostrati i raggi X e le radiazioni emanate dal radio; vedasi, a questo proposito, SMITH (1936).

Se ora noi vogliamo riassumere l'effetto globale degli incitanti sulle variazioni nei miceti, troviamo che essi portano a modificazioni dei caratteri culturali (per forma di crescita delle colonie, struttura, orientamento, natura della vegetazione superficiale, pigmentazione, anomalie nella distribuzione della vegetazione, ecc.) non meno che micromorfologiche (variazioni spesso amplissime per forma, dimensioni, colorazioni e numero dei setti dei conidi, sterilità parziale del conidioforo, profonde alterazioni strutturali in certi organi, alterati reciproci rapporti tra vari organi, ecc.). Meno profondamente sono state esaminate le modificazioni nelle caratteristiche biologiche nei funghi che hanno mostrato delle oscillazioni notevoli. Di particolare interesse è l'analisi della patogenicità nei ceppi fungini variati; come era da attendersi gli studi hanno portato a risultati variabili col variare delle specie oggetto di indagine. Così, ad esempio, CHRISTENSEN (1925) per *Helminthosporium*, e CALDIS e COONS (1926) per *Sphaeropsis*, *Colletotrichum* e *Septoria* non hanno ottenuto variazioni notevoli o solo piccole fluttuazioni positive e negative. HORNE e MITTER (1927) per *Fusarium*, ULLSTRUP (1935) per *Gibberella*, HYNES (1935) per *Helminthosporium*, PODWICK (1936) per *Ophiobolus*, STAKMAN „et al". (1929) per *Ustilago*, ecc. avrebbero riscontrato una minore virulenza nei ceppi mutati. Al polo opposto sono i risultati dell'esperienze di HORNE (1928) per *Cytosporina*, GASSNER e STRAIB (1932) per *Puccinia*, DAS GUPTA (1933) per *Cytosporina* e *Phomopsis*, MATSUURA (1933) per *Brachysporium*, SLEETH (1934) per *Fusarium*, ecc., i quali hanno riscontrato un aumento di patogenicità nei ceppi mutati.

Da questa breve e necessariamente incompleta rivista si può concludere solo che nei miceti la gamma delle variazioni (futtuazioni e mutazioni) è amplissima e che non si può indicare nessuna regola d'insieme, forse neppure statistica, che abbia un valore universale. Ciò, del resto, si accorda pienamente con le nostre conoscenze sulle svariatissime e complesse attitudini dei miceti. Ma considerando l'insieme dei fenomeni, ed astrazion fatta dai dettagli che possono sviare dalla comprensione globale, si può anche concludere che il fenomeno della dissociazione nei lieviti non rappresenta altro che un capitolo delle variazioni (in senso lato) dei miceti, e che l'interpretazione del fenomeno della dissociazione dovrà essere inquadrato nell'imponente complesso delle variazioni nei miceti di cui non rappresenta che un caso.

Se noi cerchiamo di interpretare le dissociazioni nei lieviti alla luce delle ipotesi emesse per spiegare la variabilità dei miceti, ci troviamo di fronte a difficoltà notevoli. La prima d'esse si ha nel fatto che le variazioni indotte nei ceppi dissociati sono transitorie ma permangono più o meno lungamente durante un certo numero di generazioni, il che equivale a dire che sono parzialmente e temportaneamente ereditarie. Per conseguenza il patrimonio ereditario è modificato solo transitoriamente e non abbiamo, allo stato attuale delle nostre conoscenze, nessuna ipotesi plausibile atta a spiegarne il meccanismo. Ma anche qualora volessimo ritenere che la dissociazione dovesse essere inclusa piuttosto tra le variazioni ereditarie che fra le non ereditarie, ignoriamo completamente se sono dovute a modificazioni del citoplasma o del nucleo, non solo perchè gli studi cariologici sui ceppi dissociati restano ancora completamente a fare, ma (e sopratutto) perchè la mancanza di una generazione sessuale nei lieviti asporigeni ci toglie il mezzo più eficace di conoscere i rapporti tra cariogamia e variazioni del patrimonio somatico. D'altronde, anche alla luce delle due ipotesi più note, non si giunge a risultati conclusivi per lo meno in riguardo alla dissociazione [1]).

Latamente, il fenomeno della dissociazione potrebbe inquadrarsi con la „teoria ciclogenetica" di Leonian (1925, 1926 e 1929) a sua volta connessa con le affini teorie della ciclogenesi nei batteri [2]). Questo micologo parte dal fatto, ormai provato per molte specie e facente parte del patrimonio d'esperienza di ogni micologo, che le singole cellule di un fungo, sieno esse del micelio o di organi riproduttivi, non sono identiche tra di loro, morfologicamente o biologicamente o per entranbi i gruppi di caratteristiche, ma differiscono, per lo meno potenzialmente. L'ambiente esterno agirebbe nel senso di portare ad una segregazione e ricombinazione di queste caratteristiche in alcune cellule piuttosto che in altre: una o poche di esse, in qualche modo meglio rispondenti allo stimolo ambientale, si accrescono più rapidamente formando una colonia o parte di una colonia variata, e quindi diversa dalle altre. Per ricombinazione o segregazione successiva di fattori insiti nelle cellule, si può ritornare al tipo di partenza. Ogni organismo oscillerebbe dunque intorno ad un tipo medio costante nella somma dei caratteri genetici, ma di cui alcuni apparirebbero o scomparirebbero a seconda dell'incitamento ambientale; ogni fase (morfologica o biologica) sarebbe per conseguenza solo il risultato dello stimolo ambientale immediato, pur restando potenzialmente la possibilità di variare in ogni altro senso. Ma poichè il numero delle possibili fluttuazioni compatibili con la vita e con la possibilità di riproduzione della cellula è limitato, il microorganismo finisce per ritornare ad una delle fasi che si sono avute in precedenza appena se ne presenterà l'occasione.

[1]) Jollós a proposito di certi protozoi, emise l'ipotesi di „modificazioni durature" („Dauermodificationen") ereditarie, di sede citoplasmatica, a finalità di adattamento nei riguardi dell'ambiente che le ha provocate, non interessanti il nucleo. Tali modificazioni durature avrebbero in commune con le mutazioni l'apparizione repentina e l'ereditarietà, ma ne differirebbero per l'armonia tra condizioni di ambiente che le hanno provocate e l'adattamento dei ceppi variati. Poichè il controllo di tali modificazioni citoplasmatiche si ha attraverso la generazione sessuata, non è possibile sapere se possono applicarsi alla dissociazione dei lieviti asporigeni. Ma si può osservare che le variazioni indotte in ceppi dissociati non sembrano avere una tendenza esclusivamente finalista, ma interessano una serie di caratteristiche multiple e complesse che esulano dalla modificazione di adattamento al mezzo che ha provocato la dissociazione. L'affine teoria delle „mutazioni citoplasmatiche" di Harder (1927), che differisce da quella di Jollós solo per la mancanza di finalismo nelle modificazioni del fungo, soffre delle stesse difficoltà di controllo della stabilità dei caratteri modificati attraverso la cariogamia.

[2]) Per maggiori dettagli sulla ciclogenesi nei batteri si veda la fondamentale opera di Henderlein (1925); per altra letteratura sull'argomento si veda, tra gli studi più recenti, la parte generale del lavoro di Seppilli e Tolentino (1938) sulle „pettenkoferie".

Secondo le nostre viste ci si può riattaccare, sebbene con qualche modificazione, alle viste di LEONIAN in questo modo: una popolazione di lieviti asporigeni quale è costituita da una coltura monocitogenetica, può paragonarsi ad un clone che si moltiplica vegetativamente (agamicamente) in un mezzo limitato, in cui però ognuna delle cellule ha potenzialmente un complesso di caratteristiche morfologiche e biologiche che la differenzia da un'altra consimile, ciò che risponde bene al concetto odierno di individualità in seno alla specie, di distinto nel simile. Per conseguenza ognuna delle cellule costituenti il clone attuale, qualora fosse isolata, sarebbe il punto di partenza di un nuovo clone simile a quello d'origine ma non del tutto eguale. Il polimorfismo attuale della popolazione di una colonia è ridotto rispetto al polimorfismo potenziale di tutte le possibili popolazioni derivanti dal clone stesso data l'uniformità, la limitazione e la normalitá del mezzo che compensano le variazioni individuali portando ad una popolazione media, cioè normale. In termini ciclogenetici, le condizioni non perturbatrici dell'ambiente portano ad una auxanogenesi (incremento numerico) maggiore della probenogenesi (incremento delle differenziazioni), connesse con la relativa dominanza di un tipo morfologico e biochimico — quello meglio adattato — e quindi ad un ridotto polimorfismo. E'questo in fondo il caso studiato da DU RIETZ per le piante superiori, per cui una popolazione costituita da una certa specie diffusa in un'area geografica ridotta non trova possibilità a variazioni morfologiche ed ecologiche le quali si manifestano invece a mano a mano che l'area di distribuzione della specie si espande, e quindi si diversifica. Analogamente la popolazione costituita da una cultura di lievito può considerarsi come una popolazione apomittica i cui singoli individui hanno una origine morfologica, citologica e biologica comune, modificata però nel patrimonio genetico individuale: all'incirca quella che TURESSON ha chiamato, per le piante superiori, „agamospecie", includente una serie di entità ecologiche minori („agamotipi" od „ecotipi agamici").

Il normale clone di un lievito asporigeno è perciò costituito da una serie di agamotipi facenti parte della popolazione normale; i vari tipi sono compatibili tra di loro in quanto la competizione è ridotta. Appena le condizioni di vita sono meno favorevoli di quelle necessarie a permettere la convivenza dei diversi ecotipi nell'ecospecie, solo gli ecotipi meglio adatti si perpetuano. Ma questi ecotipi hanno non solo la caratteristica di adattamento all'ambiente non favorevole ma anche una serie di caratteristiche collaterali, concomitanti ed in qualche modo collegate tra di loro, il che porta alla creazione di un nuovo clone variato rispetto a quello di partenza. In termini ecologici il nuovo clone costituisce una ecospecie diversa da quella originale per il minore numero di ecotipi, che può giungere anche ad un ecospecie monoecotipica se le condizioni di vita sono molto severe. In quest'ultimo caso il clone non varia più nemmeno se le singole cellule sono riportate alle condizioni ottimali di vita e rimane costànte in quanto sono scomparsi gli ecotipi aventi la possibilità di ripristino di forme differenti. Tale è il caso (per lo meno teorico) della forma „R" costante di fronte alla forma „S" normale. Ma se permangono viventi qualcuno degli ecotipi allo stato di quiescenza nel clone dissociato, quando l'ambiente viene riportato nelle condizioni ottimali si ha una graduale moltiplicazione di essi in parallelo con quelli residuati dalla primitiva selezione operata dall'ambiente: si hanno cioè le forme „R" ed „S" coesistenti. Il proseguire delle condizioni ottimali fa sì che i rapporti di velocità di moltiplicazione si invertono e le cellule atte a dare i tipi „R" sono sopraffatte da quelle di tipo „S" meglio adattate all'ambiente favorevole di vita: è questa la fase di reversione alla forma „S". Nel caso infine che il clone normale „S" non possegga cellule atte potenzialmente a generare la forma „R", l'ambiente incitante porta all'impossibilità di sviluppo della colonia.

Condizioni d'ambiente	*Ottimali*	*Ottimali*	*Subottimali*	*Subottimali*	*Subottimali*	FASE DI PARTENZA
Stimolo alla dissociazione	no	no	si	si	si	
Costituzione del mosaico dell'ecospecie	S S S S S S S S S S S S S S S S S S	S S S S R S R S S R S S R S S S S S	S R S S R R R S S S R S R R R S S S	R R R R S R S R R S R R S R R R R R	R R R R R R R R R R R R R R R R R R	
Tipo di colonia	COLONIA S	COLONIA S	COLONIA SR	COLONIA R	COLONIA R	
Interpretazione	Ecospecie con esclusiva presenza dell'ecotipo S	Ecospecie con dominanza dell'ecotipo S	Ecospecie senza dominanza definita degli ecotipi R ed S	Ecospecie con dominanza dell'ecotipo R	Ecospecie con esclusiva presenza dell'ecotipo R	
Condizioni d'ambiente	*Ottimali*	*Ottimali*	*Ottimali*	*Ottimali*	*Ottimali*	FASE DI ARRIVO
Stimolo alla dissociazione	no	no	no	no	no	
Costituzione del mosaico dell'ecospecie	S S S S S S S S S S S S S S S S S S	S S S S R S R S S R S S R S S S S S	S S S S R S R S S R S S R S S S S S	S S S S R S R S S R S S R S S S S S	R R R R R R R R R R R R R R R R R R	
Tipo di colonia	COLONIA S	COLONIA S	COLONIA S	COLONIA S	COLONIA R	
Interpretazione	colonia S non dissociabile	colonia S dissociabile ma non dissociata	colonia RS semidissociata ritornante al tipo normale S	colonia R dissociata tornante al tipo normale S	colonia R dissociata non più reversibile	

Questa interpretazione del fenomeno della dissociazione nei lieviti asporigeni sarebbe di interesse solo astratto se non vi fosse la possibilità di un controllo sperimentale.

Osservando l'insieme delle condizioni incitanti alla dissociazione in rapporto al fisico-chimismo cellulare, *nella fase „R" i lieviti si comportano come se vi fosse una minore permeabilità cellulare degli elementi figurati rispetto al mezzo ambiente.* Le minori attività biochimiche (fermentative) e le diminuite attitudini patogenetiche parrebbero rispondere ad una minore attività di scambi col mezzo ambiente, ed a questo stesso fenomeno potrebbe riportarsi la resistenza ai mezzi culturali ostili che alterano le proprietà osmotiche dei mezzi stessi: il disseccamento dei substrati e l'aggressività di sostanze aggiunte al mezzo di cultura, contro cui il lievito si difenderebbe diminuendo o comunque alterando i poteri di assorbimento.

E' per saggiare questa ulteriore ipotesi intorno al meccanismo della dissociazione in riguardo alla permeabilità cellulare che vennero escogitate delle prove di dissociazione nella *Mycotorula albicans* usando quale incitante la permanenza di cellule del lievito per un tempo vario in diverse concentrazioni di una soluzione non nociva alla vita del fungo altro che per il fatto stesso della variata concentrazione, e quindi per modificazione dell'osmosi del mezzo.

Partendo da uno dei ceppi in precedenza usati da uno di noi (Cavallero, 1938) per lo studio del fenomeno, si impiegò quale mezzo incitante una soluzione di saccarosio del commercio a diversa concentrazione partendo dalla soluzione N/1 (grammi 342,1 di saccarosio per litro di H_2O), progressivamente diluita in modo da ottenere delle soluzioni 0,9/N, 0,8/N, 0,7/N, ecc. fino a 0,1/N. Il risultato di queste esperienze viene riassunto a continuazione.

Influenza della concentrazione del mezzo liquido incitante (soluzione di saccarosio) sulla dissociazione della Mycotorula albicans: concentrazione variabile e tempo d'azione costante.

Il nostro studio sperimentale è stato condotto su uno stipite di *Mycotorula albicans* (Robin) Lang. et Tal., proveniente dal Centraalbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda) etichettato come ceppo „Mackinnon 493"; esso è stato isolato da questo autore da un caso id „sindrome di Gilchrist". Si sono prese in considerazione le varianti „S", „R" ed „SR" che già uno di noi (Cavallero 1938) ha ottenuto con particolari modalità tecniche dalla forma liscia primitiva di questo stipite.

Due ansate di patina fungina recente rispettivamente della fase „S", „R" ed „SR" del ceppo, sono state sospese in soluzioni di saccarosio diversamente concentrate da una soluzione normale (contenente gr. 342, 1 di saccarosio ordinario del commercio per 1000 cc. di acqua) ad una 0,9/N, 0,8/N, ecc. fino ad una soluzione 0,1/N. Dopo 24 e 48 ore di permanenza del fungo in tali mezzi, si preleva materiale e, previa opportuna diluizione, si semina in piastra di agar glucosato al 4%. Le provette in cui è stato sospeso il fungo e le piastre per l'isolamento sono state tenute a temperatura ambiente.

Gli isolamenti effettuati dopo 24 e 48 ore hanno permesso di osservare lo sviluppo di colonie di tipo diverso e in percentuale varia; nelle seguenti tabelle riportiamo i risultati complessivi degli isolamenti effettuati dopo 24 ore, mentre ci esimiamo dal riferire quelli ottenuti col fungo rimasto per 48 ore nelle soluzioni a crescente concentrazione perchè in sostanza essi sono stati equivalenti.

FASE „S" in soluzione di saccarosio	Fase e numero delle colonie osservate negli isolamenti		
	„S"	„R"	„SR"
1/N	—	12	2
0,9/N	2	23	—
0,7/N	—	20	—
0,5/N	7	5	1
0,4/N	5	28	1
0,1/N	3	25	—

FASE „R" in soluzione di saccarosio	Fase e numero delle colonie osservate negli isolamenti		
	„R"	„S"	„SR"
1/N	5	—	—
0,9/N	18	—	—
0,7/N	25	5	—
0,5/N	12	6	1
0,4/N	20	2	—
0,1/N	30	5	1

FASE „SR" in soluzione di saccarosio	Fase e numero delle colonie osservate negli isolamenti		
	„S"	„R"	„SR"
1/N	—	8	2
0,9/N	1	12	1
0,7/N	4	13	—
0,5/N	8	7	—
0,4/N	9	20	2
0,1/N	2	19	—

Influenza della concentrazione del mezzo liquido incitante (soluzione di saccarosio) sulla Mycotorula albicans; concentrazione costante e tempo d'azione variable.

Materiale d'esperimento è come nella precedente ricerca uno stipite di *M. albicans:* si studia il comportamento delle fasi „S" ed „R" del ceppo „MACKINNON 493", messe a contatto con una soluzione N/1 di saccarosio (ipertonica), una soluzione 95‰ di saccarosio in H_2O (iso o paraisotonica) e con H_2O distillata. I trapianti si fanno in agar al 2%, glucosato al 4% e addizionato di NaCl in percentuale del 0,8%, e a Ph = 6,4 dopo 2, 4, ... fino a 10 giorni dall'inizio dell'esperimento.

Si tiene conto dell'influenza che il terreno per sé stesso considerato, può esercitare sul fenomeno. Si fanno a tale scopo due serie di esperimenti: in una prima serie si usa per i trapianti un agar già da tempo preparato, e quindi povero in acqua, in cui la fase „S", seminata per controllo in una prova preliminare, assume in parte caratteri di fase intermedia secondo un rapporto medio di $\frac{\text{colonie „S"}}{\text{colonie „SR"}} = 2—3$, senza peraltro dare mai sviluppo a tipiche fasi „R"; la fase „R" seminata per controllo in questo terreno conserva „in toto" i suoi caratteri.

Nelle tabelle che seguono sono riportati rapporti tra il numero di colonie „S" ed „R" („SR") sviluppatesi nei trapianti dopo 2, 4, ... 10 giorni che gli elementi fungini erano rimasti a contatto delle soluzioni iper-, iso- ed ipotoniche.

FASE „S"

	dopo 2 giorni	*dopo 4 giorni*
dalla sol. ipertonica	„S/SR" = 0 + 1 col. „R"	„S/SR" = 0,1
„ „ isotonica	„S/SR" = 0,5 + 1 col. „R"	„S/SR" = 0,5 + 1 col. „R"
„ „ ipotonica	„S/SR" = 0 + 2 col. „R"	„S/SR" = 0,25 + 1 vol. „RS"

dopo 6 giorni	*dopo 8 giorni*	*dopo 10 giorni*
„S/SR" = 0	„S/SR" = 0,1 + 1 col. „R"	„S/SR" = 0,1
„S/SR" = 0,5	„S/SR" = 0,5	„S/SR" = 0,5
„S/SR" = 1 + 1 col. „R"	„S/SR" = 1	„S/SR" = 1

Dal confronto coi rapporti S/SR avuti nei controlli preliminari risulta che, indipendentemente da un'azione esercitata dal terreno, la fase „S", tenuta a contatto con soluzioni iper, ipo-ed isotoniche assume in gran parte i caratteri di fase intermedia „SR" ed in minima parte caratteri di fase „R". In tale senso l'azione delle soluzioni ipertoniche è superiore a quella esercitata dalle soluzioni iso-e ipotoniche; e quella delle soluzioni ipotoniche superiore a quella delle soluzioni isotoniche, ma non costantemente.

Nei riguardi della durata d'azione delle soluzioni diversamente concentrate, si deve ritenere in linea di massima che i rapporti „S/SR" risultanti dalle soluzioni ipertoniche ed isotoniche, pur oscillando nel tempo, sostanzialmente non si modificano, mentre tale rapporto nei riguardi delle soluzioni ipotoniche diminuisce nel tempo in modo evidente, con tendenza alla unità per aumento percentuale di fasi „S".

FASE „R"

	dopo 2 giorni	*dopo 4 giorni*	*dopo 6 giorni*
dalla sol. ipertonica	„R/S" = ∞	„R/S" = ∞	„R/S" = ∞
„ „ isotonica	„R/S" = 3,75	„R/S" = 5	„R/S" = 3,75
„ „ ipotonica	„R/S" = 20	„R/S" = 4	„R/S" = 4

dopo 8 giorni	*dopo 10 giorni*
„R/S" = ∞	„R/S" = ∞
„R/S" = 3	„R/S" = 2
„R/S" = 1,5	„R/S" = 1,2

Mentre le soluzioni ipertoniche non modificano la fase „R", quelle ipo-ed isotoniche la modificano nel senso che, in modo più spiccato le prime rispetto alle seconde, la fanno variare verso la fase „S". Nei riguardi della durata d'azione delle diverse soluzioni, quelle ipertoniche non hanno alcuna influenza apprezzabile, mentre quelle iso-ed ipotoniche agiscono nel senso che in esse aumentano percentualmente nel tempo le fasi variate verso „S".

Possiamo schematicamente così rappresentare questi primi risultati:

Influenza delle soluzioni iper-, iso- ed ipotoniche sulla fase „S" ed „R":

In sol. ipertonica		In sol. Isotonica		In sol. ipotonica	
Fase „S"	*Fase „R"*	*Fase „S"*	*Fase „R"*	*Fase „S"*	*Fase „R"*
„SR>S"	„R"	„SR"≥„S"	„R">„S"	„SR"=„S"	„R"≥„S"

Influenza della durata di azione delle singole soluzioni:

In sol. ipertonica		In sol. isotonica		In sol. ipotonica	
Fase „S"	*Fase „R"*	*Fase „S"*	*Fase „R"*	*Fase „S"*	*Fase „R"*
non influenze apprezzabili		non influenza	aumento nel tempo delle fasi „S"	aumento nel tempo delle fasi „S"	aumento nl tempo delle fasi „S"

Aggiungiamo che le soluzioni ipertoniche hanno azione inibente sullo sviluppo delle due fasi, più evidente su quelle „R"; non apprezzabili azioni favorevoli od inibenti hanno invece le soluzioni iso-ed ipotoniche su entrambe le fasi. Questa constatazione è scaturita dal conteggio delle colonie che nei trapianti si venivano sviluppando; col tempo l'azione inibente delle soluzioni ipertoniche sulla fase „R" si fa vieppiù evidente e, a parità delle altre condizioni, diminuisce il numero delle colonie che si sviluppano nei trapianti.

In una seconda serie di esperimenti abbiamo posto le due fasi, come è stato precedentemente indicato, in soluzioni iper-, iso-ed ipotoniche e quindi abbiamo seminato del materiale prelevato da ogni singola provetta ed opportunamente diluito, in un agar glucosato della stessa composizione chimica di quello usato nella prima serie di esperimenti, ma, a differenza di questo, preparato di recente e quindi ancor ricco di acqua di condensazione. In questo terreno la fase „S" conservava i suoi caratteri, mentre la fase „R", seminata per controllo, assumeva in parte i caratteri di fase „S" secondo un rapporto di „R/S" = 0,727 (media di tre prove: 46„R"/41„S", 48„R"/46„S", 21„R"/56„S"). Quì ed in seguito é espresso in cifre il numero di colonie contate nei singoli isolamenti:

FASE „S"

	dopo 2 giorni	*dopo 4, 6, 8, 10 giorni*
dalla sol. ipertonica	„S/R" = ∞	si sviluppano solo colonie „S"
„ „ isotonica	„S/R" = ∞	„ „
„ „ ipotonica	„S/R" = ∞	„ „

Dalla fase S quindi, sia che essa provenisse dalle sol. ipertoniche che da quelle iso- ed ipotoniche, abbiamo ottenuto sempre solo delle fasi S. Dobbiamo arguire che la natura del terreno ha impedito la comparsa di quelle modificazioni della fase S che sono già state documentate dalle precedenti osservazioni.

FASE „R"

	dopo 2 giorni
dalla sol. ipertonica	17„R" e 16„S" — „R/S" = 1
„ „ isotonica	42„R" e 20„S" — „R/S" = 2,1
„ „ ipotonica	35„R" e 8„S" — „R/S" = 4,4

dopo 4 giorni	*dopo 8 giorni*
56„R" e 6„S" — „R/S" = 9	38„R" e 8„S" — „R/S" = 4,5
58„R" e 9„S" — „R/S" = 6,4	64„R" e 10„S" — „R/S" = 6,4
92„R" e 6„S" — „R/S" = 15,3	56„R" e 41„S" — „R/S" = 1,4

dopo 10 giorni

52„R" e 12„S" — „R/S" = 4,33
71„R" e 44„S" — „R/S" = 1,6
83„R" e 42„S" — „R/S" = 2

Col confronto dei controlli risulta quindi che le soluzioni ipertoniche aumentano la percentuale delle fasi „R"; il fenomeno va gradualmente accentuandosi col perdurare dell'azione della soluzione. Le soluzioni isotoniche ed ipotoniche aumentano anch'esse la percentuale di fasi „R", almeno nei primi tempi, per poi perdere tale azione ulteriormente, ma solo in modo parziale; anche dopo 10 giorni che il fungo è rimasto a contatto di esse, infatti il rapporto tra colonie „R" ed „S", che nei controlli era vicino ad 1, risulta sempre superiore all'unità.

Possiamo così schematicamente rappresentare questi secondi risultati.

Influenza delle sol. iper-, iso- ed ipotoniche sulla fase „S" ed „R":

In sol. ipertonica		In sol. isotonica		In sol. ipotonica	
Fase „S"	*Fase „R"*	*Fase „S"*	*Fase „R"*	*Fase „S"*	*Fase „R"*
„S"	„R">„S"	„S"	„R"≥„S"	„S"	„R"≥„S"

Influenza della durata di azione delle singole soluzioni:

In sol. ipertonica		In sol. isotonica		In sol. ipotonica	
Fase „S"	*Fase „R"*	*Fase „S"*	*Fase „R"*	*Fase „S"*	*Fase „R"*
nessuna influenza	aumento nel tempo delle fasi „R"	nessuna influenza	aumento nel tempo delle fasi „S"	nessuna influenza	aumento nel tempo delle fasi „S"

Nei riguardi del comportamento della fase „S", questa seconda serie di esperimenti è stata negativa, non per quello della fase „R". Si è potuto infatti convalidare che tutte le soluzioni a diversa concentrazione, ma quelle ipertoniche in special modo, fanno variare la fase „S" verso la „R" e che nel tempo i rapporti percentuali „R/S" aumentano nelle soluzioni ipertoniche, mentre diminuiscono in quelle iso- ed ipotoniche.

Possiamo compendiare nelle seguenti conclusioni i risultati della duplice serie di esperimenti:

La fase „S" messa a contatto con soluzioni ipertoniche varia in gran parte verso la fase „SR" e in parte anche verso la fase estrema „R" secondo rapporti che non si modificano in relazione alla durata d'azione di dette soluzioni. La stessa fase a contatto con soluzioni ipotoniche varia pure in tal senso, ma in minor grado; nei riguardi della

durata di azione la variazione di fase in queste soluzioni si fa meno evidente nel tempo. A contatto di soluzioni isotoniche si ha un comportamento analogo a quello che la fase „S" ha nelle soluzioni ipotoniche.

La fase „R" in soluzioni ipertoniche conserva i suoi caratteri in totalità; in soluzioni ipotoniche ed isotoniche presenta un comportamento irregolare per quel che riguarda l'influenza diretta delle soluzioni sulla variazione del fungo, per quel che si riferisce invece alla durata d'azione delle singole soluzioni si deve indubbiamente ritenere che nel tempo le fasi „R" perdono sempre in maggior numero i loro caratteri per assumere quelli di fase „S", fatto che risulta molto più evidente per le soluzioni ipo- che non per quelle isotoniche.

Noi crediamo che l'aver usato per i trapianti due terreni ad identica composizione chimica, ma di natura fisica diversa (rispettivamente agar da tempo preparato e povero di acqua, e agar di recente preparato e ricco di acqua), e traendo le nostre conclusioni dall'insieme dei risultati ottenuti nella duplice serie di esperimenti, ci siamo messi nelle migliori condizioni per evitare le interferenze che si sarebbero altrimenti avute nel nostro studio per un'eventuale azione incitante alla variazione del terreno, per sé stesso considerato come un fattore fisico di variazione. Abbiamo già in altra sede dimostrato che la natura fisica dell'agar, usato pei trapianti negli studi sulle variazioni dei lieviti, può esercitare un'influenza sul fenomeno; dai risultati sopra riportati si ha ancora un'altra sicura documentazione di questo fatto (Cavallero, 1938).

Queste esperienze non danno la prova cruciale che l'ipotesi da noi prospettata circa una rapporto tra permeabilitá della tunica cellulare e variazioni di fase del lievito, ma la rendono altamente probabile, e se saranno necessari altri studi ed altre esperienze per saggiarla ulteriormente, ci pare che la spiegazione possa reggere almeno come ipotesi di lavoro.

Del resto tale ipotesi non é neppure nuova in quanto, sebbene per altre ragioni con poche successo, fu già emessa da Lieske (1926) per spiegare l'azione dei sali di litio, di sodio e di calcio nella comparsa delle cosidette „pettenkoferie" nelle culture di certe forme batteriche. Noi non intendiamo affatto abbordare il complesso e molto discusso problema di queste forme, per il quale rimandiamo allo studio critico e sperimentale recentissimo di Seppilli e Tolentino (1938), ma sta il fatto che la comparsa delle „pettenkoferie" si ha in condizioni di vita che ricordano molto da vicino la comparsa di forme dissociate nei lieviti: mezzi naturali poveri; vecchie culture; temperatura di cultura diversa da quella ottimale; reazione del mezzo ambiente diversa da quella ottimale; terreni artificiali poveri; aggiunta al mezzo di cultura di sali di calcio, magnesio e, sopratutto, litio e di sostanze ostili quali il fenolo; attenuazione delle caratteristiche biochimiche nelle forme „pettenkoferiche"; diminuzione dell'agglutinabilita sierologica delle stesse; modificazioni nelle caratteristiche micromorfologiche; ecc. [1]). Che tale ipotesi di una semplice azione osmotica dovuta all'ipertonia del mezzo culturale sia stata indirettamente contraddetta da Maassen (1904) tendente a dimostrare un'azione specifica del litio diversa

[1]) E' giá stato notato che le analogie potrebbero essere spinte anche piú avanti se si volesse ravvicinare la forma „C" (coccoide) alla micromorfologia a forme blastosporiche isolate della fase „S" dei lieviti, e la forma „B" (bacillare) con le dipendenti forme „D" (dentridiche) e „F" (filamentose) alla micromorfologia dei lieviti nella fase „R", con formazione di pseudo-ife miceliche e lunghe catene di elementi a scarso potere di gemmazione.

da quella, meno sensibile, esercitata da concentrazioni equimolecolari di sali di vari metalli alcalini significa poco, ai nostri fini, data la speciale natura del fenomeno pettenkoferico, molto piú delicato che non la dissociazione nei lieviti.

Naturalmente è d'uopo ammettere che oltre al fattore della permeabilità della membrana cellulare, altri fattori, per il momento a noi ignoti, possano intervenire nel fenomeno dissociativo in rispondenza agli incitanti del mezzo; e che tali fenomeni collaterali si associno simultaneamente a quello del modificato rapporto osmotico tra cellule e mezzo lo dimostra il fatto che le nostre esperienze non hanno dato quei risultati così netti che sarebbe stato logico attendersi.

Comunque rimane il fatto che nel mosaico costituente il clone culturale del lievito asporigeno esistono (per lo meno in riguardo al potere osmotico) due tipi di cellule gemmanti: una a scambi normali e facili col mezzo esterno che darebbe origine al tipo „S", ed una a scambi ridotti in relazione ad una maggiore osmofilia che darebbe origine al tipo „R" [1]). Bisogna anche ammettere che i diversi poteri osmotici dei due tipi di cellule siano correlati, a loro volta, con una serie di caratteristiche non direttamente dipendenti da questo fenomeno, cioè altre che le attività biochimiche e patogenetiche, ed in prima linea le diverse attitudini morfogeniche a loro volta connesse con quelle culturali. In particolare con il diminuito potere osmotico sta la facilità da parte del micete produrre quadri micromorfologici aberranti con diminuzione nel numero delle semplici e normali blastospore ed aumento di cellule allungate, formanti l'apparato filamentoso, di cellule giganti, di cellule abnormi, ecc. e quindi le colonie rugose della fase „R".

Possiamo quindi concludere quanto segue:

1) Il fenomeno della dissociazione nei lieviti asporigeni s'inquadra nella variabilità dei miceti; i caratteri della dissociazione sono quelli di una „fluttuazione" generalmente graduale, reversibile, in direzione costante, multipla e correlata, e non quelli di una „mutazione".

2) La popolazione di un clone (cultura monocitogenetica) si comporta come un mosaico di individui a differenti attitudini morfogeniche, biochimiche e patogenetiche in cui l'azione incitante alla dissociazione agisce riducendo (in casi estremi eliminando) l'attività moltiplicatrice di un gruppo del mosaico a vantaggio di un altro. Ciò equivale a dire che in seno all'ecospecie (nel senso di Turesson) si trovano diversi ecotipi tra i quali si possono mettere in evidenza quelli riproducenti il complesso delle caratteristiche della fase „R" ed il complesso delle caratteristiche della fase „S". Con questa ammissione e con qualche modificazione, il fenomeno della dissociazione nei lieviti asporigeni si inquadra in quello ciclogenetico quale è stato enunciato per i funghi da Leonian.

3) Gli esperimenti effettuati allo scopo di studiare i rapporti tra poteri osmotici delle cellule gemmanti e situazione di fase, starebbero a dimostrare che la permanenza delle cellule in mezzi ipertonici ed ipotonici (quelli più di questi) ma non in altro modo ostili

---

[1]) Mentre il presente lavoro era in redazione, è stata pubblicata una nota di E. Tosatti [La permeabilità all'acqua ed alle soluzioni clorosodiche delle colonie essiccate di *Eberthella typhi* e di *Escherichia coli* in fase S ed R. Giorn. Batt. ed Immunol., **20**, (6), 1187—1200, 1938] con la quale l'A. tende a dimostrare che i microrganismi da lui saggiati quando sono in fase S sono più permeabili di quelli di fase R; non esclude che intercorrano stretti rapporti tra lo stato di permeabilità all'acqua ed alle soluzioni clorosodiche e la differente morfologia delle colonie batteriche come espressioni dello stato dissociativo. Le conclusioni del Tosatti confortano le nostre analoghe ipotesi.

rappresentano un incitamento sufficente alla dissociazione della forma „S" verso le forme „SR" od „R", ciò che dimostra come nelle culture normali (di tipo „S") sieno presenti cellule molto più abbondanti a normale osmofilia le quali si moltiplicano più attivamente in condizioni ordinarie di vita, ma anche poche cellule a maggior latitudine di adattamento osmotico, e più spesso resistenti a mezzi ipertonici. Gli incitamenti alla dissociazione in questo caso riducono l'attività moltiplicatrice delle cellule „S" a favore delle „R" resistenti. Al ripristinarsi delle condizioni ottimali, le cellule „S" tornano ad avere il sopravvento sulle cellule „R". Per conseguenza le possibilità di dissociazione si inquadrano in uno degli schemi seguenti:

Clone di sole cellule „S" + incitamento = non dissociabile (colonie fissate in fase „S").

Clone di cellule „S" e poche „R" + incitamento = dissociabile con formazione di colonie „SR" ed „R".

Clone dissociato con la maggior parte di cellule „R" e poche „S" + incitamento = dissociabile con formazione di colonie „RS" o „S".

Clone di sole cellule „R" + incitamento = non dissociabile (colonie fissata in fase „R").

4) E' pure probabile che le modificazioni nell'osmofilia dei lieviti non sieno la sole atte a produrre il fenomeno della dissociazione.

5) Alle modificazioni del potere osmotico cellulare è legata anche una diversa attitudine micromorfologica (e quindi culturale) che rende evidente il fenomeno.

Summary

1) Through out the comparison of dissociation in asporigenous yeasts with the phenomena related to the variability of fungi, may be concluded that the dissociation is one of the cases of the transitional variation of fungi (fluctuation non mutation), namely, progressive, reversible, of constant and uniform direction, with multiple and correlated variation.

2) The population of a cultural clone is apparently composed of a mosaic of individual with varied aptness, including the aptness to produce colonies of „R" and „S" type. A monogenetic colony may be considered as a Turesson's „ecospecies" including many „ecotypes", and, with a few admissions, the dissociation may be explained at the light of cyclogenetic theory (as enunciated by Leonian for fungi).

3) Experiments performed using hypo-, iso- and hypertonic solutions of saccharose as „incitant" to the dissociation demonstrated the high dissociation of „RS" and „R" forms from „S" form (better using hyper- than hypotonic solutions) but not of „SR" or „S" forms from „R", so that one of the outstanding factors on dissociation may be considered the cellular osmotic power of the yeast cells („eterosmotic" hypothese).

4) According to our point of view, the normal „S" clone composed of only „S" cells is incapable of dissociation; a clone composed of „S" cells with a few „R" cells is suitable to dissociate into „SR" and „R" types; a clone of „R" type composed of „R" and a few „S" cells is suitable to dissociate into „RS" and „S" types; a clone composed of only „R" cells is incapable of dissociation.

5) A non-finalistic correlation with osmophilic cells other than biochemical and pathogenetic activities is the greater cellular polymorphism (related with the type of colony).

Letteratura citata

Barnes B., Ann. of Bot., **42**, 783—812, (1928); Ibid., **44**, (1), 825—858, (1930); Jour. Quack. Micr. Club, II, **16**, 167—173, (1931); Trans. Brit. Myc. Soc., **20**, (1), 17—32, (1935). — Blakeslee A. F., J. Hered., **11**, 278—284, (1920). — Caldis P. D. and Coons G. H., Pap. Ac. of Sc. Michig., **6**, 189, (1927). — Cavallero C., Boll. Sez. Ital. Soc. Intern. Microb., **10**, (2), 36—44, (1938); Mycopathol., **1**, (4), 227—266, (1938). — Christensen J. J., Phytopath., **15**, (12), 785—795, (1925). — Cotter, R. V., Phytopath., **24**, (10), 1121—1122, (1934). — Das Gupta S. N., Ann. of Bot., **44**, (174), 349—384, (1930); Ibid., **47**, (186), 385—400, (1933); Lucknow Univ. Studies, **5**, 83, (1936). — Dickson H., Ann. of Bot., **46**, (182), 389—405, (1932); Ibid., **47**, (188), 735—754, (1933). — Dimock A. W., Cbl. f. Bakt., II, **95**, 341—347, (1936). — Enderlein G., Bakterien-Zyklogenie, Berlin, (1925). — Galloway L. D., Trans. Brit. Myc. Soc., **28**, (2), 161—162, (1933). — Gassner G. and Straib W., Zeitschr. Indukt. Abstamm. u. Vererb., **43**, (1932). — Haenicke A., Zeitschr. f. Bot., **7**, 225—243, (1916). — Horne A. S., Sci. Ind. Res. Rpt., Food Ind. Board. (1927), 116, (1928). — Horne A. S. and Mitter J., Sci. Ind. Res. Rpt., Food Ind. Board (1926), 54, (1927). — Hynes H. J., Sci. Bull. Dept. Agr. New South Wales, **47**, 39, 4, (1935). — Leonian L. H., Amer. J. of Bot., **12**, 444—498, (1925); Phytopath., **16**, (10), 723—730, (1926); Ibid., **19**, (9), 753—868, (1929). — Lieske R., Allgem. Bakterienkunde. Berlin, (1926). — Maassen A., Arbeit. a. d. Kais. Gesundh., **21**, 385, (1904). — Matsura J., J. Pl. Protect., **19**, 121—139, 409—428, (1933). — Mitra A., J. Ind. Bot. Soc., **13**, (4), 255—268, (1934). — Padwick G. W., Ann. Appl. Biol., **23**, (1), 45—56, (1936). — Paxton G. E., Phytopath., **23**, (7), 617—619, (1933). — Schiemann E., Zeitschr. Indukt. Abstamm. u. Vererb., **8**, (1), (1912). — Seppilli A. e Tolentino P., Boll. Istit. Sierot. Milan., **17**, (4), 197—218, (1938). — Sibilia C., Bull. R. Staz. Pat. Veget. Roma, n.s., **14**, (4), 447—474, (1934). — Sleeth B., West. Virg. Agr. Exp. St., Bull. 257, pp. 23, (1934). — Smith E. C., Biol. eff. of Radia, **2**, 889—918, (1936). — Stakman E. C., Genetica, **18**, (3—4), 372—379, (1936). — Stakman E. C., Christensen J. J., and Hanna W. F., Phytopath., **20**, (1), 113, (1929). — Stakman E. C., Tyler L. J., and Hafsted G. E., Bull. Torrey Bot. Club, **60**, (8), 565—572, (1933). — Stevens F. L., Bot. Gaz., **86**, (2), 210—225, (1928); Am. J. of Bot., **17**, 870—881, (1930). — Sundaraman S., Ind. Adm. Rpt. Myc., (1931—32), 17—88, (1933). — Tanaka S., Mem. Coll. Agr. Kyoto Imp. Univ., **31**, 2, (1933). — Ullstrup A. J., J. Agr. Res., **51**, (2), 145—162, (1935). — Vasudeva R. N. S., Trans. Brit. Myc. Soc., **15**, (1—2), 96—101, (1930).

On some sporogenous yeasts and their imperfect stages

by

H. A. Diddens and J. Lodder.

(*From the „Centraalbureau voor Schimmelcultures" at Baarn, Holland*)

With 3 figures.

(27.VIII.1938.)

Introduction

Taxonomy of yeasts is based in the first place on the presence or absence of the ability to produce ascospores. The spore-forming yeasts belong to the Ascomycetes, whereas the yeasts lacking this ability have to be placed in the large group of the Fungi imperfecti. Hence in classificatory practice it is of primary importance to establish whether a yeast strain is able to produce ascospores or not.

Notwithstanding all that, this point of view has not seldom been neglected. Since by far the majority of the pathogenic yeasts are anascosporogenous, it is not rare to find that medical mycologists have omitted the examination of the sporeforming ability of yeast strains isolated by them. And even when this quality has more or less accidentally been established, the result has often been ignored in the determination of the taxonomic position of the yeast.

For this reason we have deemed it necessary, in making a systematic survey of the numerous supposedly anascosporogenous yeast cultures present in the collection of the „Centraalbureau voor Schimmelcultures", to re-examine all these cultures on the possible presence of the ability to form spores.

In total nearly 300 cultures have been investigated, nine of which yielded a positive result.

It seems worth-while to report here on these cases, because this result involves a change in taxonomy of some species, partly well known in medical mycology.

There is, however, still a second reason which made us decide to publish this part of our critical survey of the anascosporogenous yeast species separately. Until now the classification of sporogenous and that of asporogenous yeasts have developed largely along quite independent lines. As far as the pseudomycelium-forming representatives of the latter group (*Mycotoruloideae*) are concerned, we owe of late to Langeron and his collaborators reliable methods for the determination of valuable morphological characters (mode of attachment of blastospores to pseudomycelium etc.). It now has become tempting to apply the same investigatory methods to sporogenous yeast cultures as well. In doing so, and by taking at the same time the physiological characters into account, it has become possible to furnish satisfactory evidence that indeed various asporogenous yeasts have to be considered as imperfect stages of partly well-known sporogenous species.

The results reported below offer several examples of this point of view. A continuation of this study along the line indicated, *i.e.* a systematic study of the pseudomycelium-forming ability of sporogenous yeast species, might, moreover, in the long run markedly influence the principles to be used in the classification of the sporogenous yeasts.

Experimental results and taxonomic conclusions

In testing the various yeast cultures on their spore-forming ability use has been made of all better-known methods, *viz.* the "block of plaster" method, the inoculation from young malt agar cultures on carrot, on potato, and on GORODKOWA-agar.

Taking into account also the other characteristics of the nine species yielding a positive result, it was possible to establish that six of them did belong to the genus *Saccharomyces*, two to the genus *Hansenula*, and one to the genus *Debaryomyces*.

A. We shall now first discuss the strains belonging to the genus *Saccharomyces*:

I. *Mycocandida pinoyisimilis* (A. Cast.) Red. et Cif. var. *Citelliana* Red. et Cif.

This culture has been described by CIFERRI and REDAELLI in 1935 [1]). It was isolated by CARCÒ at Catania from a human lesion of the tonsils and the pharynx. The "Centraalbureau" received this culture in May 1934 from CIFERRI and REDAELLI.

Ascospores were observed by us on a slice of carrot after an incubation -period of one week. Each ascus contains four or less spores. For the greater part the spores are reniform. With exception of this ascospore-formation the morphological characteristics of this culture, as described by CIFERRI and REDAELLI, correspond very well to those observed by us. Slide cultures on peptone-glucose agar [after the technique of RIVALIER and SEYDEL [2])] — a method which has come up of late to study the morphology of yeasts, especially with regard to the formation of pseudomycelium or mycelium with the arrangement of blastospores — showed the same appearance (Fig. 1) as is reproduced on the photo of the Italian investigators (cf. Fig. 15 in the publication of CIFERRI and REDAELLI). However, the results of the fermentation-tests made by these investigators do not correspond very well to our observations. CIFERRI and REDAELLI reported this culture to be able to ferment glucose, fructose and saccharose, whereas we observed fermentation of glucose fructose, mannose, galactose, saccharose and lactose, and not of maltose. But as these authors state that the results of two independently made tests on sugar fermentation were diverging, while we got in all of our tests the same results, we think we may accept the correctness of our own results.

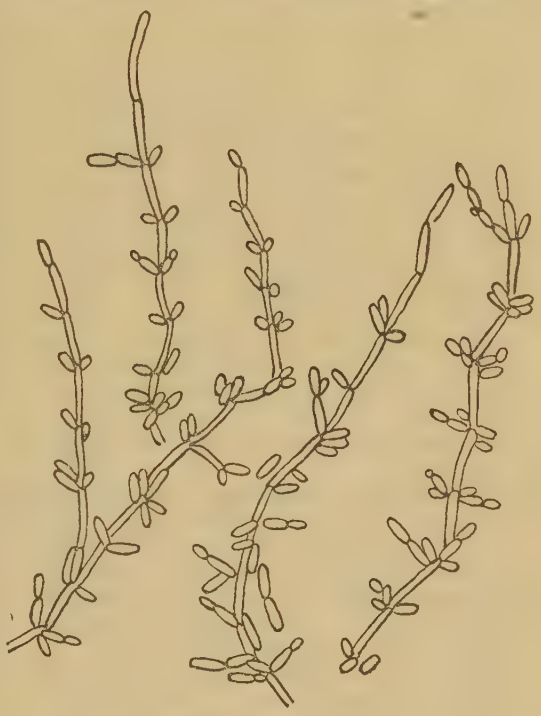


Fig. 1.

As for the systematic place of this organism among the sporogenous yeasts, it evidently belongs to the genus *Saccharomyces* and it is completely identical with *Saccharomyces fragilis* Jörgensen [3]). The latter organism, isolated by the author of the species from kefir, is, at least in Holland, frequently found in buttermilk.

The culture we are dealing with shows a striking resemblance with a culture labelled

---

[1]) R. CIFERRI e P. REDAELLI, Archiv f. Mikrobiol., **6**, 9, (1935).

[2]) E. RIVALIER et S. SEYDEL, Compts. rend. Soc. Biol., **40**, 181 (1932); Ann. d. Parasitol. hum. et comp., **10**, 444, (1932).

[3]) Cf. N. M. STELLING-DEKKER, Die Hefesammlung des „Centraalbureau voor Schimmelcultures". Erster Teil, Die sporogenen Hefen. Verh. Kon. Akad. v. Wetensch. **28**, (1931), (p. 148).

Monilia pseudotropicalis A. Cast. received from CASTELLANI in September 1935. This culture, an authentic one, corresponds very well to the description of CASTELLANI [1]), which, however, is based on biochemical characteristics only. As is pointed out of late by several investigators the name *Monilia* has, however, to be disregarded in designating yeasts. We wish to use here the generic name *Candida* sensu BERKHOUT [2]), intending to discuss elsewhere these questions of nomenclature more extensively. BERKHOUT herself did not study this culture, but a great number of other yeastlike "*Monilias*" for which she established the generic name *Candida.*

According to DODGE [3]), BASGAL in 1931 placed *Monilia pseudotropicalis* in the genus *Candida.*

Candida pseudotropicalis (A. Cast.) Basgal does not produce ascospores, but is in all other respects, morphologically as well as physiologically, identical with the culture designated by CIFERRI and REDAELLI as *Mycocandida pinoyisimilis* (A. Cast.) Red. et Cif. var. *Citelliana* Red. et Cif. (= *Saccharomyces fragilis* Jörgensen, cf. p. 29). As the morphology of the sporogenous yeasts has not been studied with the slide culture-method of RIVALIER and SEYDEL, we investigated several strains of *Saccharomyces fragilis* of the collection of the "Centraalbureau" according to this method: all of them with the same results. They produced well developed pseudomycelium on which the blastospores are arranged exactly in the same way as with the Italian strain. Only one minor difference may be mentioned, *viz.*: the greater part of the strains of *Saccharomyces fragilis* show on malt agar slants a slightly rough appearance, whereas most strains of *Candida pseudotropicalis* are smooth. There are, however, strains of *Saccharomyces fragilis* with a fairly smooth appearance, and on the other hand we met also with strains of *Candida pseudotropicalis* with a slightly rough surface on malt agar slants.

On the whole both groups are quite identical, at least on the understanding that *Saccharomyces fragilis* can produce ascospores and *Candida pseudotropicalis* lacks this ability. We may therefore consider *Candida pseudotropicalis* as being the imperfect stage of *Saccharomyces fragilis.*

II. The five other *Saccharomyces* strains are mutually identical. They are listed in the 1937 catalogue of the "Centraalbureau" as follows:

1. *Blastodendrion macedoniense* (A. Cast.) Lang. et Guerra [4]), strain 684.
2. „ „ „ „ „ „ , strain 684bis.
3. *Candida macedoniensis* (A. Cast.) Berkh. var. *macedoniensoides* (A. Cast.) Westerdijk [5]).
4. *Monilia pseudotropicalis* A. Cast., strain A. T. C. C.
5. *Mycocandida pseudotropicalis* (A. Cast.) Cif. et Red.

The "Centraalbureau" received the two strains of *Blastodendrion macedoniense* from LANGERON in 1936. Originally these strains came from CASTELLANI.

Candida macedoniensis var. *macedoniensoides* was sent twice to the "Centraalbureau" by CASTELLANI, one strain in 1926 and the other in 1935.

The cultures of *Monilia pseudotropicalis*, strain A.T.C.C., and of *Mycocandida pseudotropicalis* were received respectively in 1935 from the American Type Culture Collection and in 1934 from CIFERRI and REDAELLI.

The characteristics of these five strains correspond very well with the description of *Monilia macedoniensis* and of *Monilia macedoniensis* var. *macedoniensoides*, as given by CASTELLANI [6]).

CASTELLANI's description of *Monilia macedoniensis* reads as follows: "Found in sputum. Colonies on glucose agar white, smooth. Ferments, with production of gas glucose, laevulose, galactose, saccharose and inulin, not maltose or lactose. It does not liquefy

[1]) A. CASTELLANI, Journ. of Trop. Med. and Hyg., **40**, 293, (1937).

[2]) CHR. M. BERKHOUT, „De schimmelgeslachten Monilia, Oidium, Oospora en Torula", Diss. Utrecht, (1923).

[3]) C. W. DODGE, "Medical Mycology",London, Henry Kimpton, (1936), (p. 259).

[4]) M. LANGERON et P. GUERRA, Octava Reun. Soc. argentina patol. region. Norte, Santiago del Estero, oct. 1933, Buenos Aires, 98, (1934).

[5]) List of Cultures 1932, "Centraalbureau voor Schimmelcultures" Baarn (Holland).

[6]) l. c.

gelatine. It clots milk. Some observers have described asci and consider the organism to be a *Saccharomyces*".

The description of *Monilia macedoniensis* var. *macedoniensoides* runs as follows: "This is a common variety and has been isolated by me from the air and also from sputum. I do not consider the organism to be pathogenic. On glucose agar colonies white, smooth, composed of yeast-like cells, roundish or slightly oval, mostly 2.5—4.7 μ in diameter. In hanging-drop cultures mycelium usually absent, but occasionally a small amount of it, ramified, 2—2.5 μ in diameter, may be seen. Gelatine not liquefied, milk not clotted. Some authorities have described asci and consider the fungus to be a *Saccharomyces*.

Biochemical characters. — Among the standard carbohydrates used by me in the classification of *Monilias*, it produces gas in glucose, laevulose, galactose, saccharose, inulin, not in maltose and lactose".

From the above quoted descriptions it appears that this variety only differs from the species by its lack of ability to clot milk. As we think it inadmissible to establish a variety on this single, rather unstable character, we consider this variety as being identical with the species „*macedoniensis*".

As follows from the description of CASTELLANI, we are not first in discovering ascospore-formation in this organism.

STOVALL and BUBOLZ [1]) in 1932 also mentioned ascospores and brought this species into the genus *Endomyces*; LANGERON and GUERRA [2]) in 1938 described ascospores and classified the organism in the genus *Saccharomyces*. Undoubtedly still other scientists will have osberved ascospores in this organism.

Fig. 2.

As far is known to us, nobody ever tried to compare this species with other sporogenous yeasts in order to identify it eventually with one of the known species. We think such comparative studies of great importance; the results of the investigations made are given here. For all methods employed the reader is referred to the monograph of STELLING-DEKKER [3]) on the sporogenous yeasts.

Growth on malt extract after 24 hours at 25° C:

The cells are for the greater part oval, (3.5—5) × (5—8) μ; some cells are elongated 4.5 × 12 μ; cells are single or arranged in pairs (Fig. 2).

After 6 days at 25° C the number of elongated cells has increased, (3—6) × (5.5—14)μ. A sediment and a ring are formed.

Growth on malt agar after 6 days at 25° C:

The cells are oval or elongated, (2—5) × (5—19) μ, single or in pairs.

After 40 days at 25° C the growth on malt agar slant is yellowish-white, soft, smooth and glistening.

Ascospores are easily formed on carrot slices after an incubation of some days at 25° C. The spores are oval or reniform. There are four or less spores in the ascus (Fig. 3).

Fig. 3.

Sugar-fermentation: Glucose +, fructose +, mannose +, galactose +, saccharose +, maltose —, lactose —, raffinose $^1/_3$, inulin + [4]).

Assimilation of nitrate: Negative.

Growth in a medium with ethyl alcohol as sole source of carbon: No growth.

The organism does not produce any true septated mycelium which can break up into oidia; it only reproduces by budding. Hence it

---

[1]) W. D. STOVALL and A. A. BUBOLZ, Journ. of Infect. Dis., **50**, 73, (1932).

[2]) M. LANGERON et P. GUERRA, Ann. d. Parasitol. hum. et comp., **16**, 36, (1938).

[3]) l. c.

[4]) Though we never include this carbohydrate in our fermentation tests, we tried it in this case, because CASTELLANI did so.

does neither belong to the genus *Endomyces*, nor to the genus *Endomycopsis*, but is a *Saccharomyces*.

If we consider the species of *Saccharomyces* mentioned in the key to this genus drawn up by STELLING-DEKKER [1]), this organism is closest to *Saccharomyces exiguus* Reess and *Saccharomyces Mangini* Guilliermond which have the same type of sugar-fermentation (inulin was not tested). It can however easily be distinguished from these two species by the shape and the dimensions of the cells, and by the shape of the ascospores.

As was mentioned before, CASTELLANI already pointed out its belonging to the genus *Saccharomyces*, however without comparing it with other species of this genus.

As this organism could not be identified by us with one of the known species of *Saccharomyces*, it has to be considered as a new species for which we propose the name *Saccharomyces macedoniensis*.

Diagnosis of *Saccharomyces macedoniensis* n. sp.:

Cells oval or elongated, (3—6) × (5.5—14) μ, single or in pairs. A sediment and a ring are formed in malt extract. The ascospores, in the number of four or less in an ascus, are oval or reniform. Glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose and inulin are fermented, raffinose for a third part. Nitrate is not assimilated. In a medium with ethyl alcohol as sole source of carbon no growth occurs. Growth on malt agar slant is yellowish-white, soft, smooth and glistening.

In the collection of the "Centraalbureau" there are, moreover, two cultures which have to be considered to represent the imperfect stage of *Saccharomyces macedoniensis*, *viz.*: *Candida macedoniensis* (A. Cast.) Berkh. and *Saccharomyces fragrans* Beijerinck.

The "Centraalbureau" received the former culture under the name of *Monilia macedoniensis* A. Cast. in 1920 from JOEKES. It has been studied by BERKHOUT who classified it in her newly created genus *Candida*.

The culture of *Saccharomyces fragrans* has been isolated in the "Laboratorium voor Microbiologie" at Delft by MAYER as a contamination of commercial yeast of the factory "Vrijland van der Hooge" at Schiedam (Holland). A suspension of yeast cells in water was heated at 50° C for 15 minutes and afterwards inoculated on a malt agar plate, from which a pure culture was obtained in the usual manner. BEIJERINCK mentioned *Saccharomyces fragrans* more or less extensively in various publications. The main descriptions [2]), as given by this author, are cited here in full:

"Sie [3]) besteht aus Zellen von ca. 5 à 6 μ; ist also viel kleiner wie die gewöhnliche Presshefe, welche 8 μ misst; sie vergärt Glucose, Laevulose und Rohrzucker sehr energisch zu Alkohol und Kohlensäure und erzeugt aus den beiden ersten Zuckern dazu etwas Essigäther.Sie vergärt und assimiliert Maltose, Dextrin und Stärke gar nicht. Bei der Gelatinekultur spaltet sie sich, wie viele andere Hefearten, in drei morphologische, in der Form der Kolonieen sehr verschiedene Varietäten, wovon eine aus gewöhnlichen ellipsoidischen, eine andere aus langfadenförmigen Zellen besteht, welche sich aber, eben wie die dritte Zwischenform, physiologisch identisch verhalten."

[4]) "Je l'appelle *Saccharomyces fragrans* puisque lors de sa croissance en présence de glucose elle dégage un peu d'acétate d'éthyle. Elle mérite quelque attention à cause de sa grande vitalité et de son très haut maximum de croissance, trouvé un peu au-dessus de 41° C."

The strain of *Saccharomyces fragrans* isolated by MAYER corresponds very well to BEIJERINCK's not very extensive description. BEIJERINCK did not describe ascospore-formation and, although this strain was tested on this ability immediately after its isolation, neither MAYER, nor we observed asci. In all other respects it is identical with *Saccharomyces macedoniensis*. Besides it has two more characteristics, not inserted in our description of *Saccharomyces macedoniensis* [5]) *viz.*: the development of a slight odour

[1]) l. c.

[2]) M. W. BEIJERINCK, Verzamelde Geschriften, III, 132 and 133, (1921) from Centralbl. f. Bakt. und Parasit. II, **1**, 221, 265, 329, (1895).

[3]) *Saccharomyces fragrans*.

[4]) M. W. BEIJERINCK, Verzamelde Geschriften, IV, 64, (1921) from Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles, Sér. II, **7**, 212, (1901).

[5]) As the description of *Saccharomyces macedoniensis* was formulated in analogy to those in STELLING-DEKKER's monography.

of fruit ether and a good growth at relatively high temperatures (41° C). MAYER used this latter characteristic in isolating *Saccharomyces fragrans*. We could confirm the presence of these two characteristics in all our strains of *Saccharomyces macedoniensis* and in the strain of *Candida macedoniensis*.

As BEIJERINCK did not describe ascospore-formation with his *Saccharomyces fragrans*, he incorrectly placed this organism in the genus *Saccharomyces*; for this reason we cannot accept the species name for the non-spore-forming stage (*Candida macedoniensis*); for the same reason we neither can accept it for the spore-forming stage (*Saccharomyces macedoniensis*). We only have to register the name *Saccharomyces fragrans* as a synonym of *Candida macedoniensis*.

In comparing the strains of *Candida macedoniensis* with those of *Saccharomyces macedoniensis*, we also made slide cultures in order to study the development of pseudomycelium with blastospores. Not only did both sets of cultures appear to be quite identical — as had been expected — but they showed, moreover, a striking resemblance with the slide cultures of *Saccharomyces fragilis* and *Candida pseudotropicalis* (cf. Fig. 1). Besides we compared both groups of organisms ("*fragilis-pseudotropicalis*" and "*macedoniensis*") in other respects and found them to be closely related. Both have the same appearance on slide cultures; both are able to ferment glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose, inulin and raffinose for $^1/_3$, but not maltose; both can develop a slight odour of fruit ether and grow at a relatively high temperature (41° C).

The difference between these two species rests upon the ability of the "*fragilis-pseudotropicalis*" group to ferment lactose, whereas "*macedoniensis*" lacks this capacity. Besides — as was mentioned above — *Saccharomyces fragilis* generally has a somewhat rough appearance on malt agar, while the cultures of *Candida pseudotropicalis* show a more smooth growth and all strains of *Saccharomyces macedoniensis* and *Candida macedoniensis* are smooth on malt agar. Though the appearance of cultures is only a characteristic of secondary order, we still think it worth mentioning.

The ability of a yeast to ferment lactose is a very noteworthy and distinct character, and is generally accepted in yeast-taxonomy to offer sufficient ground for the differentiation of species. Though we consider both organisms as being very closely related, we want them for this reason to be kept separated into two species.

In view of the above mentioned it is no wonder to find that the great similarity of both species has given rise to errors in their identification. For instance, two cultures, labeled *Monilia pseudotropicalis* and *Mycocandida pseudotropicalis*, respectively appeared to be identical with *Saccharomyces macedoniensis*, whereas on the other hand a culture, sent in as *Mycotorula macedoniensis*, proved to be *Candida pseudotropicalis*.

The origin of the culture of *Monilia pseudotropicalis* we received from the American Type Culture Collection is not known to us. *Mycocandida pseudotropicalis* has been described by CIFERRI and REDAELLI [1]) who received the culture from CASTELLANI. They apparently did not test the sugar-fermentation, but published the data, given by CASTELLANI. In the same paper the two Italian investigators described *Mycotorula macedoniensis* after an authentic culture of CASTELLANI; they referred likewise in this case to this author for the results of the sugar fermentation. After our investigations, however, the *Mycotorula macedoniensis* we received from CIFERRI and REDAELLI, is identical with *Candida pseudotropicalis*. It seems probable that a mistake will have been made in labeling these cultures, owing to their great similarity.

B. We found two ascosporogenous strains belonging to the genus *Hansenula*:

1. *Monilia javanica* Went et Prinsen Geerligs. This yeast has been isolated by WENT and PRINSEN GEERLIGS from "raggi", a kind of rice cake, made by indigenous people in the Netherlands East-Indies. The "Centraalbureau" received this strain in 1912 from WENT. WENT and PRINSEN GEERLIGS [2]) give the following description: "Makroskopisches Äussere. Wenn man in einen Kolben mit zuckerhaltiger Nährflüssigkeit einige Zellen dieser Hefe bringt, so bleiben diese auf der Oberfläche der

[1]) l. c.

[2]) F. A. F. C. WENT en H. C. PRINSEN GEERLIGS, Meded. v. h. Proefstation v. Suikerriet "West Java" te Kagok-Tegal, N. 13, (1894); Archief v. d. Java-suikerindustrie (1894); Verh. Kon. Akad. v. Wetensch. te Amsterdam, **4**, Sect. 2, N. 2, (1895).

Flüssigkeit schwimmen, und bilden, wenn sie sich vermehren, nach 1 bis 2 Tagen eine Kahmhaut. Darauf wird die Kahmhaut gekräuselt und steigt auch an die Wand des Kolben etwas über die Flüssigkeit empor. Zugleicherzeit sinken eine Anzahl Hefezellen bis auf den Boden des Gefässes. Bald tritt jetzt Gährung ein, grosse Kohlensäureblasen heben die Kahmhaut empor und zerbrechen sie zuletzt; nach etwa 10 Tagen ist die Gährung abgelaufen.

Zieht man die Hefe auf Agar-agarplatten, denen Zucker und die nöhtigen Nährsalze zugesetzt sind, so breitet sie sich in dünner Schicht rasch auf der Oberfläche des Agar-agars aus, wobei der Rand, wo die Kolonie weiter wächst, erst eine schwach gebogene Linie ist; später entstehen aber Ausstülpungen an diesem Rande, sodass die ganze Kolonie wie mit Franzen umgeben ist. Bei schwacher Vergrösserung scheinen diese Franze aus durcheinander geschlungenen Pilzfäden zu bestehen .....

Mikroskopisches Aussehen.

Betrachtet man die Hefe aus der Kahmhaut, aus der Mitte der Kolonien auf Agar oder vom Boden der Kulturkolben, so ergeben sich Bilder wie in Fig. 1*a*—*i* dargestellt, also runde oder birnförmige Hefezellen, welche sich in der gewöhnlichen Art durch Sprossung vermehren, nur bisweilen etwas unregelmässige Formen (*d*, *i*) annehmen und sogar dann und wann zu Fäden auswachsen können (*e*, *f*). Die Zellen bleiben ziemlich lange an einander befestigt.

Betrachten wir die Franzen der Agarkolonien, oder besser noch die Auswüchse der Reiskörner, so finden wir ein verschlungenes Gewebe von Pilzfäden, sodass Körper entstehen, wie sie in Fig. 2 im optischen Querschnitt dargestellt sind .... An der Peripherie sprossen aus diesen Pilzfäden Hefezellen hervor ....

Systematische Stellung. Aus dem Vorgehenden zeigt sich, dass dieser Hefepilz wenig Übereinstimmung hat mit den Arten der Gattung *Saccharomyces*, wenn man diese im Sinne Hansen's auffasst. Überzeugend stellte sich das heraus, als die Hefe auf feuchten Gipsblöckchen gezogen wurde und sich trotzdem *keine endogenen Sporen* bildeten. Es scheint uns, dass diese Hefe nur ein Entwickelungszustand irgend eines höheren Pilzes ist; diesen Pilz zu finden, ist uns aber nicht gelungen. Da die Hefe nun doch einen Namen haben muss, so wird sie wohl am Besten untergebracht in die Gattung *Monilia*, wo so viele Formen hingestellt werden, mit denen man eigentlich nicht viel zu machen weiss. Diese Spezies nennen wir *Monilia javanica.*

Physiologische Eigenschaften .... Als Stickstoffnahrung wird am liebsten Pepton benützt, dann kommen Asparagin und Ureum, weiter Nitrate und am wenigsten gern werden Ammoniumsalze (sowohl Sulfate wie Chloride) aufgenommen. Nitrite können gar nicht als Stickstoffnahrung dienen ....

Gährung findet statt in Lösungen von Dextrose, Laevulose, Maltose, Raffinose und Saccharose (welche erst von der Hefe invertirt wird), dagegen nicht von Lactose ....".

Berkhout [1]) studied the culture the "Centraalbureau" received from Went. She observed ascospore-formation and rightly placed this yeast because of the hat-shaped form of the spores and other characters in the genus *Willia* (*Hansenula*). But after her opinion the culture does not correspond to the description of *Monilia javanica* by Went and Prinsen Geerligs for the following three reasons: 1. She observed ascospores, whereas Went and Prinsen Geerligs tested this character on blocks of plaster with negative results; 2. No bundles of threadlike cells were observed by her; 3. She never saw any conidia giving rise to threadlike cells. Berkhout namely interpreted in this way the statement of the phenomenon by Went and Prinsen Geerligs that sometimes the round or pear-shaped cells can grow out to threadlike cells.

When we critically consider these three points, we firstly have to remark that Went and Prinsen Geerligs tested the ascospore-formation of the culture only on blocks of plaster. This fact does not exclude the possibility that they could have had positive results on other media. We, for instance, observed ascospore-formation in rather old malt agar cultures.

2. The bundles of threadlike cells ("verschlungenes Gewebe von Pilzfäden") mentioned in the publication of Went and Prinsen Geerligs are apparently coremia. This also is quite clear if we examine Fig. 2 of the publication of these authors. Pseudomyce-

[1]) l.c.

lium developing yeasts very often form coremia. On slide cultures of the strain in question they frequently were observed.

3. WENT and PRINSEN GEERLIGS observed sometimes the round cells not producing round cells again by budding, but threadlike ones. BERKHOUT took these threadlike cells for germ tubes which arise from conidia (the round cells). We however cannot subscribe to this interpretation. From the description of WENT and PRINSEN GEERLIGS it is clear that they observed the formation of a pseudomycelium. We came also upon an abundant development of pseudomycelium in our slide cultures.

From the above we may conclude that the culture in the collection of the "Centraalbureau", received from WENT in 1912, corresponds very well to the description of *Monilia javanica*. On the other hand we agree with BERKHOUT who found the organism to belong to the genus *Hansenula*. We could identify it with *Hansenula anomala* (Hansen) Sydow [1]). This is a rather common yeast, isolated for the first time by HANSEN from brewery yeast in 1891.

2. The second strain belonging to the genus *Hansenula* was sent to the "Centraalbureau" by NIÑO in 1933 as *Monilia* species. It has been isolated by MOLLE from "intertrigo blastomicetico". This strain easily forms hat-shaped ascopores on malt-agar. It proved to be identical with *Hansenula javanica* (Groenewege) Dekker [2]). GROENEWEGE has isolated this organism in 1920 from moulded sheet-rubber. This species has since been frequently isolated from different sources.

Studying our anascosporogenous strains we also met with the imperfect stage of *Hansenula javanica*, *viz. Candida pelliculosa* Red. This organism has been isolated in 1925 by REDAELLI [3]) from a case of pulmonary tuberculosis. *Candida pelliculosa* corresponds in every respect, except ascospore-formation, to *Hansenula javanica*, but it too shows a great likeness with *Hansenula anomala*. The main difference between these two *Hansenula* species lies in the fact that *Hansenula javanica* has only round or oval cells in young malt extract- or malt agar cultures, whereas *Hansenula anomala* shows next to these round or oval cells in addition long cells, or putting it somewhat differently: *Hansenula javanica* does not produce pseudomycelium in young malt extract- or malt agar cultures, whereas *Hansenula anomala* already develops pseudomycelium in young cultures. The other characters of both species are the same.

Cultures of both *Hansenula* species and of *Candida pelliculosa* were also identical in their development on slides.

In conclusion we may say that *Hansenula javanica* represents the perfect stage of *Candida pelliculosa*, both showing the same cell shape and size in young malt extract- and malt agar cultures.

C. One of the strains we found to be sporogenous appeared to belong to the genus *Debaryomyces*. We received this strain, labeled *Myceloblastanon gifuense* Taniguchi, in 1935 from OTA.

TANIGUCHI [4]) isolated from a "*Erosio interdigitalis blastomycetica*" of labourers of a paper factory in the province Gifu in Japan a yeast which he described as *Myceloblastanon gifuense*. After this description the organism is an asporogenous yeast, able to ferment glucose, fructose, mannose and maltose, not galactose, saccharose or raffinose. The cells are oval or oblong; often filaments, consisting of very long cells, are formed.

This description of *Myceloblastanon gifuense* does not correspond at all with the characters of the culture we received under the same name from OTA. OTA's organism does not show any long cells, but only round or oval cells, neither does it have any fermentative power.

Hence it follows that the organism sent by OTA is not *Myceloblastanon gifuense* and therefore incorrectly bears this name. OTA's organism develops ascospores, especially

[1]) cf. N. M. STELLING-DEKKER, l. c., (p. 406).

[2]) cf. N. M. STELLING-DEKKER, l. c., (p. 427).

[3]) P. REDAELLI, "I miceti come associazione microbica nella tubercolosi polmonare cavitaria", Pavia (1925).

[4]) Y. TANIGUCHI, Jap. Journ. of Med. Sciences, Trans XIII, Dermatol. and Urol., **1**, 75, (1927).

on carrot-slices. The ascus contains only one spore which has a verrucous wall. Copulation has been observed, preceding the ascus-formation. It undoubtedly belongs to the genus *Debaryomyces* and is identical with *Debaryomyces Matruchoti* Grigoraki et Péju [1]). The latter species has been isolated by the authors from the stool of a patient suffering from "helminthiasis". In the course of time the "Centraalbureau" received several strains of this species for identification, most of them from human sources.

Summary

In a systematic study of about 300 supposedly anascosporogenous yeast cultures it was found that nine strains actually did form ascospores. A further investigation of these strains, together with a comparative study of evidently closely related asporogenous strains, led to the following results.

Mycocandida pinoyisimilis (A. Cast.) Red. et Cif. var. *Citelliana* Red. et Cif. proved to be identical with *Saccharomyces fragilis* Jörgensen.

Monilia pseudotropicalis A. Cast. = *Candida pseudotropicalis* (A. Cast.) Basgal has to be considered as the imperfect stage of *Saccharomyces fragilis* Jörgensen.

Monilia macedoniensis A. Cast. = *Blastodendrion macedoniense* (A. Cast.) Lang. et Guerra, as well as the variety *macedoniensoides* [= *Candida macedoniensis* (A. Cast.) Berkh. var. *macedoniensoides* (A. Cast.) Westerdijk], should in future be designated as: *Saccharomyces macedoniensis* Diddens et Lodder.

The yeast incorrectly named by Beijerinck: *Saccharomyces fragrans* proved to be the imperfect stage of *Saccharomyces macedoniensis* Diddens et Lodder. Hence the correct designation of the species in question appears to be: *Candida macedoniensis* (A. Cast.) Berkh.

Monilia javanica Went et Prinsen Geerligs proved to be identical with *Hansenula anomala* (Hansen) Sydow.

A *Monilia* species isolated by Molle from „intertrigo blastomicetico" proved to be identical with *Hansenula javanica* (Groenewege) Dekker.

Candida pelliculosa Red. is the imperfect stage of the last mentioned species.

A strain received from Ota, and labeled: *Myceloblastanon gifuense* Taniguchi — which, however, did not answer the diagnosis of this species — proved to be identical with *Debaryomyces Matruchoti* Grigoraki et Péju.

[1]) cf.: N. M. Stelling-Dekker, l. c., (p. 467).

Agostino Bassi precursor of comparative mycopathology

by

P. Redaelli and V. Visocchi.

(*From the Istituto di Anatomia Patologica, R. Università di Pavia, and from the Istituto Botanico, Facoltà di Agraria, R. Università di Firenze*)

(6.IX.1938.)

Much has been written, specially in Italy, on the enlightened work of Agostino Bassi from Mairago (1773—1856) as precursor of Pasteur and Lister. Parasitologists and bacteriologists often speak of him as he who first gave a tangible demonstration of the existence of live contagion and precisely defined the infective nature of a disease.

We now intend to remember him once again to scientists as the founder of comparative mycopathology.

At his time the hypothesis on the "seed" of contagious diseases had since long been imagined, but the idea of the existence of parasite organisms which coming from the outside penetrated and operated in the host organism and from here went out again to spread the disease, was not yet mature.

The original observations of Atanasio Kircher on pest (1641 and 1656) had not thrown sufficient light on the mystery surrounding the "contagioum" neither had those of Lange (1761) on an epidemic disease of the skin frequent then among puerperae: Lange and Hauptmann referred this disease to putrefaction of retained lochia.

Lange also believed that measles, smallpox and petechial fever were caused by live organisms. Many contemporary scientists shared this opinion: Zacutus Lusitanus (1649), a Spaniard Juan Thomas Porcell, Ziengler and Paullini (1685).

Only towards the end of the XVII century did the first really reliable descriptions of some organisms absolutely invisible to the naked eye appear: this was due to Antony van Leeuwenhoek who however did not declare his opinion on the significance of the organisms observed nor on their importance in nature's economy. Nevertheless the discovery was bound to be connected with the unextinguished doctrine of animated pathology. So the small organisms, as result from the publication of Elsholz (1679), a physician, were readily taken into consideration, to explain the genesis of numerous diseases. The discovery of the itch acarus, renewed in 1687 by the research work of Cosimo Buonomo and Giacinto Cestoni helped to accredit and strengthen the opinion of the parasitic origin of many diseases. Andry (1700) promoted the aforesaid doctrine in France and it was also supported by Hartsoker (1730). Among the Italian promoters of bold opinion were Redi, Lancisi, Vallisnieri etc.

While studying pest in Marseilles in 1721 Goiffon thought he had discovered in the buboes some small worms invisible to the naked eye and Lebeque (1721) believed them to be a verminous seed.

Also the famous Linnaeus (1757) although he had accumulated in his "Systema Naturae" all the infinitely small organisms in the genus *Chaos*, admitted the existence together with *Chaos infusorium*, of exceedingly small organisms perhaps not yet discovered or not well enough known, which probably were the cause of contagion of exanthematicus diseases, of high and violent fever and of venereal contagious diseases. The

organisms discovered by LEEUWENHOEK, the germs which cause fermentation and putrefaction were to be placed in the same category. NYSSANDER, one of LINNAEUS' scholars, was also of the opinion that infinitely small organisms were the animated agents of human diseases.

But the doctrine was strongly opposed by DE HAËN, a Viennese physician, and by MUSGRAVE an Englishman.

On the other hand amongst its supporters we may mention PLENCIZ (1762) who repeated LEEUWENHOEK's observations and developed with great ability the microbic doctrine of contagious diseases, of fermentation and putrefaction. So, while the hypothesis of animated contagion had its most valid supporter (PLENCIZ) in the same city where DE HAËN taught and in France it was defended by RÉAMUR, in England, the mother-land of MUSGRAVE, PRINGLE's (1750) memorable works on nosocomial gangrene and castrensian typhus were published.

The same views were shared by RASORI, the physician from Pavia famous for the dissertations on stimulus and counter-stimulus, by VALERIANO L. BRERA (Pavia 1819) and BORSIERI (Milan 1785).

It was particularly in Italy that the doctrine of contagion was developed towards the end of the XVIII and the beginning of the XIX Century: the most brilliant men responsible for this revival were ACERBI and BASSI.

AGOSTINO BASSI's immortal discovery of the "contagium vivum" by proving that calcino or silkworm rot was caused by a live organism, a cryptogam, had therefore been naturally prepared: this particularly by LAZZARO SPALLANZANI who, proclaiming since 1700 at the Pavia University the necessity of experimental scientific methods for the research of new truths, denied spontaneous generation of live organisms and also spontaneous generation of contagion.

The scientific atmosphere in which AGOSTINO BASSI's mind was formed (he graduatde in law at the Pavia University) was already permeated by the great hypotheses, the same which had enlightened GIACOMO ACERBI in the preparation of his work entitled "Dottrina teorico pratica del morbo petecchiale" (Milano, 1882).

We do not wish to analyse this work which contains all the fundamental principles of the theory of contagious diseases and although it does not carry any new or well precised facts it opens the way to their demonstration by comparing the most important phenomena of contagion with others peculiar to live organisms. GIOVAN BATTISTA GRASSI wrote that "bearing in mind the precise and exact observations of natural history repeatedly mentioned by him and also his strong opposition to spontaneous generation, we must think that he possessed a little of the spirit of SPALLANZANI of whom he must have been a scholar ....".

Towards 1800, while scientists were anxious to find out the nature of human contagion and particularly of petechial typhus, bubonic pest and cholera, a silkworm disease called "calcino" or "mal del segno" or "muscardine" (in France) was causing great trouble in Italy and France. The first news of a study by FOSCARINI on this disease appeared in 1820 and in 1821. He arrived at the conclusion that utensils which had come in contact with diseased silkworms were contagious, that silkworms killed by the disease are also contagious, although the disease in itself may probably not be so and that smoking and repeatedly passing infected utensils over a flame destroys the miasma of the contagion etc. etc.

But, as GRASSI remarks, FOSCARINI was still far from ACERBI's views and from those which lead BASSI to his discovery. This is very important because it puts in its true light

the geniality of Bassi, who demonstrated that at Foscarini's time scientists and silkworm cultivators were far from supposing that calcino could be caused by a cryptogam, that is to say by a vegetal organism of the very lowest classes which grows and reproduces itself in the body of the silkworms. Generally it was attributed to a deterioration of live organic matter capable of converting it, by means of chemical combinations, into a saltish substance, ... (Bassi).

In fact Foscarini and the others ignored that in the diseased silkworm, before it dies and undergoes calcination, there lives a parasite which will cause its death and will render it capable of spreading the disease or in one word will render it contagious.

In order to mention what was known on calcino prior to Bassi we may say that Brugnatelli from Pavia had noticed that recently dead silkworms had a fungus smell. The famous parasitologist G. B. Grassi in a brilliant study in 1925, recalls the works of Nysten who had been charged by the French Government with the study of the silkworm disease and had come to the conclusion (1808) that neither dead silkworms nor utensils which come in contact with them become contagious. According to Nyster the disease becomes contagious because of the exhalations from dead silkworms. He also attempted to find out with the aid of a microscope the true nature of the disease and he certainly encountered the cryptogam, but expressly denied its vegetal nature. So after having seen and described the *Botrytis* he decided for a chemical theory in which phosphoric acid is the main factor and combining with calcium forms a phosphate.

Agostino Bassi although forced by family conditions to study law had also studied for pleasure mathematics, chemistry, some branches of medicine and particularly natural science as taught at the Pavia University by the great Lazzaro Spallanzani.

Notwithstanding that what he had learned at the University was certainly not equal to the task and that since youth he had been affected by a serious and progressive disease of the eyes which soon afterwards made him blind, Agostino Bassi, whose faith made up for any deficiency, undertook the study of the terrible silkworm disease. He began his work in 1807 when everyone believed that the silkworm rot had its spontaneous source in atmospheric conditions, in food and in feeding methods, etc., etc. Bassi, moving from these beliefs, tried to reproduce the disease artificially: the silkworms died but they did not show the characteristics of calcino. Thinking that the disease was probably due to hyperacidity of the silkworm he also tested the influence of acids, but the results were still negative.

At last one day after hanging some silkworms contained in paperbags at different heights in a chimney he succeeded in obtaining silkworm calcination: but this was owing to an error so after ten years (1816) Bassi convinced himself that he had worked in vain and he got discouraged. Still he persists and comes to think that "if the disease does not arise spontaneously in the silkworm perhaps it is necessary that some external germ penetrates into its body from the outside in order to cause it". Then follows long years of intense and silent work and finally in 1833 he decides to make known his results and he exposes them to a commission of the medicophilosophical faculty at the Pavia University: the results concern the demonstration of the contagiousness of the incrustation and white efflorescence of diseased silkworms and also the great diffusiveness of this contagious matter and the chemical modalities to prevent contagion and destroy it.

The conclusions are obviously of great importance but they still fail to reveal the fatal germ which was discovered the following year (1835); Agostino Bassi then tells us that "only the organism which I will now describe has the power of producing the aforesaid disease. It is a plant of the cryptogam kind, a parasitic fungus. The silkworm which

contains it inside, is not externally contagious, because when still alive it has not yet the seed and germs on the surface of its body".

This description is obviously altogether insufficient but we must remember that Bassi was almost blind and very unfamiliar with cryptogamic science. It was Giuseppe Balsamo Crivelli, then substitute professor of natural history at Milan, who came to his assistance confirming this discovery and concluding therefore that the incrustation and the white efflorescence which covers the body of a dead silkworm is a fungus of the genus *Botrytis* which he first named *Botrytis paradoxa* and afterwards *Botrytis Bassiana*.

Balsamo Crivelli praised the discoverer with unforgettable words: in a medical journal he wrote in 1835 "This fact revealed by Bassi marks an epoch in natural science and may be the source of other important discoveries so that Signor Bassi shall always be honored".

With accurate experiments Bassi demonstrated that the contagious germ may be transmitted by inoculation, by contact and by means of the food. The fungus requires a live host for its growth but it does not produce or mature its fruits or seed until after the death of the small animal which nourished it. "The efflorescence, that white matter which covers the diseased silkworm when it dies, is a mass or rather an aggregate of those same small parasitic plants".

"When dried it forms a very fine dust which contains abundant seed". "The parasites grows better when the air is humid, warm and still. There are silkworms which although killed by the disease do not show the chalky appearance due to the white efflorescence; but they remain equally contagious even if this power is limited to the internal part of the body". Agostino Bassi proved this assertion with a delicate experiment and with other brilliant experiments he demonstrated how the germs do not diffuse until the silkworms dry; then he made known the exact modalities of contagion by means of the air, food, persons, all infected implements and also by animals (specially flies) etc. etc. Bassi proves that the germ is most virulent when recent and from this he infers the principle of attenuation.

Giovan Battista Grassi remembering the following words written on Pasteur "Les travaux sur l'étiologie du charbon furent une veritable révolution en pathologie. C'était en somme le premier example de l'étude experimental précise d'une maladie infectieuse, la démonstration de la valeur spécifique d'une bacterie et l'assise sur laquelle repose la doctrine microbienne des maladies. Une méthode experimentale précise avec ses deductions rigoureuses pénétrait en médicine", justly says that these same words are more suited to Bassi's work; Pasteur's glory is so rich of precious gems that it is not necessary to add any, which are not altogether his.

There was much objection and criticism to Bassi's studies specially on the part of the scientific authorities who still supported spontaneous generation of contagious germs. This hypothesis still gathered a large majority. In 1851 Agostino Bassi wavered in front of the dominant theories and the criticism which came to him even from his closest friends; and although he never rejected those sound beliefs which had lead him to write "I would think I am renouncing to my reason, if I did not admit that the *Botrytis* is the cause of calcino", he admitted to his opponents that calcino could sometimes arise spontaneously owing to the development of the chalky germs inborn in the silkworms; nevertheless he never surrendered as far as to admit spontaneous generation of the cryptogam which he had discovered; in fact he thought (and no one had thought so before him) that the parasite may probably have been hereditary. This in fact was afterwards proved for "pebrine", another silkworm disease.

But the truth triumphed in 1851 when Dr. VITTADINI a brilliant assistant at the Pavia botanic garden, described the spores of the *Botrytis*, whose existance, BASSI had perceived by intuition, and proved that the *Botrytis* can live and grow perfectly well "also when it is isolated and taken away from the influence of live organisms on animal and vegetal substances such as honey, oils, sugar solutions, gum, mannitol, ichtyocolla, insect humor and specially silkworm humor".

By these researches VITTADINI not only confirmed a debated discovery but he became a precursor of those same methods which in the hands of KOCH proved to be one of the most efficacious means of studying microbes.

Once it was proved that the "contagium vivum" could be identified with a parasite it would have been only too natural and alluring to attempt to generalise the assertions and find a special parasite for every special disease. But AGOSTINO BASSI was blind and could no longer devote himself to experimental work so he had to be contented to go as far as possible with his genial intuition; he declared that "all contagious diseases of vegetals and animals including mankind are caused by parasites. Hydrophobia, syphilis, gonorrhea, petechia, smallpox, cholera, pest and most if not all skin diseases, are caused and maintained by vegetal and animal parasites of different species. Scab is caused by a small animal organism called acarus and tinea by a fungus".

Human mycopathology precursors had only worked about ten years earlier: GRUBY (1841—1844) is the most prominent figure and he was preceded only by REMAK (1837) who for the first time attempted to reproduce experimentally a human fungus disease by inoculating the fungus of a disease called "favo".

The presence of the parasite is necessary to produce contagion but it is nevertheless insufficient when other necessary conditions are missing in the affected organisms which allows the development of the parasite: by stating this AGOSTINO BASSI established the bases of pathogenesis of contagious diseases.

We cannot stop to mention BASSI's other works on pellagra, on mulberry tree gangrene, on cholera, etc. etc., nevertheless it is well to remember that in 1852 BASSI wrote and issued a pamphlet giving indications how to free vines from a diseases then predominating which is caused by a cryptogam first indicated by TUCKER in 1847 (*Oidium Tuckeri*). BASSI not only attributed the disease to the fungus but he also indicated a defence method advising farmers to kill the spores with hydrated lime and by fumigating with sulphur fumes.

A complete study on this subject by MARES and notes on it by GAUTIER in France appeared only in 1853.

BASSI also gave advice on a very serious potato disease even before the *Botrytis infestans* described by MARTIUS in 1842 and by MONTAGNE in 1845 (later transferred by DE BARY to the genus *Phytophtora*) was known to be the only cause of it.

AGOSTINO BASSI deserves a seat of glory beside PASTEUR, KOCH, LISTER, TULASNE and DE BARY whom we may consider as his epigoni. The serious condition of his eyesight and the conditions of his work which he did all outside the temple of official science, far away from any study centre (he carried out all his experiments in his native town of Mairago) did not allow him to improve his discovery.

Nevertheless his publications brought him great renown; many Italian and foreign accademies were eager to have him as a member. The King of France and the Emperors of Austria and Russia conferred honours, medals and money to him. But in the vertiginous succession of discoveries of the years following his death, his work, like that of many other great men, was often forgotten and became of a purely historical importance.

Bassi's most important works on „calcino"

Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, malattia che affligge i bachi da seta e sul modo di liberarne le bigattaie anche le più infestate. Parte I, Teorica, pp. I—IX, 1—67, presso Orcesi, Lodi 1835; Parte II, Pratica, pp. I—XVI, 1—58, presso Orcesi, Lodi 1836.

Memoria in addizione all'opera sul calcino — pp. 38, presso Molina, Milano, 1837.

Del mal del segno, ecc., Parte teorica e pratica, II edizione, presso Molina, 1837.

Breve istruzione per evitare il danno che reca il calcino, ecc. pp. 42, presso Molina, Milano, 1839.

Tre nuove memorie sui gelsi, sui vini e sui contagi — pp. 1—57 presso Wilmant, Lodi, 1844.

Studi sul calcino dei bachi da seta — pp. 1—8, presso Bernardoni, Milano, 1848.

Osservazioni sugli studi dei signori Guerin-Meneville ed Eugenio Robert intorno al calcino — Presso Redaelli, Milano, 1849.

Il fatto parlante dell'Autore sul modo di ben governare i bachi da seta non che su quello di prevenire e curare il terribile calcino — Presso Wilmant, Lodi 1850.

Della più utile coltivazione dei bachi da seta — Presso Wilmant, Lodi, 1851.

Bassi's main works on other subjects

Discorsi sulla natura e cura della pellagra — Presso Chiusi, Milano, 1846; in quest'opera si trovano *a*) Sulla malattia che attaccò i pomi di terra e come si possa arrestarla; *b*) Rimedi sicuri e pronti contro le febbri intermittenti; *c*) Rimedio contro le scottature; *d*) Rimedio contro le infiammazioni degli occhi.

Dei parassiti generatori dei contagi — Presso Wilmant, Lodi, 1851.

Istruzioni sicure per liberare le uve dalla malattia dominante — presso Wilmant, Lodi, 1852.

Della natura dei morbi ossia mali contagiosi e del modo di prevenirli e curarli — Presso Wilmant, Lodi, 1853.

Biobibliographic publications on Agostino Bassi and his work

G. Balsamo Crivelli, Osservazioni sopra una nuova specie di mucedinea del genere *Botrytis* che si svolge sopra i bachi da seta e le crisalidi morte di calcino; indagini riguardo alla sua origine — Bibl. Ital. Milano, LXXIX, 1835. — G. Balsamo Crivelli, Aufstellung von zwei neuen Arten Mucedinee, *Botrytis Bassiana* und *Mucor radicans*, und ueber Entwicklung der ersteren Arten in Seidenwürme — Linnaea, X, 609— 1835—1836. — G. Balsamo Crivelli, Sopra l'origine e lo sviluppo della *Botrytis Bassiana* e sopra una specie di Mucorino anche esso parassito. Bibl. Ital. XV, 367, 1838. — G. Balsamo Crivelli, Ueber den Ursprung und die Entwicklung der *Botrytis Bassiana* und einer anderen schmarotzenden Art von Schimmel, Linnaea, XIII, 188, 1839. — L. Pasteur, Etudes sur la maladie des vers a soie — Gauthier-Villars, Paris, 1870. — A. Monti, I dati fondamentali della patologia moderna — Rosenberg e Sellier Torino, 1898 (ed. inglese pubblicata a Londra nel 1900 a cura della Sydenam Society). — G. B. Grassi, I progressi della biologia e delle sue applicazioni pratiche conseguiti in Italia nell'ultimo cinquantennio. Dal volume „Cinquant'anni di Storia italiana", III, a cura dell'Accademia dei Lincei — Ed. Hoepli, Milano, 1911. — G. B. Grassi, Commentario all'opera parassitologica (sui contagi) di A. Bassi. Dal volume Opere di Agostino Bassi — Tipogr. Cooperativa di Pavia, 1925. — Sambon, Pasteur and his work historically considered. Journ. Trop. Med., 15, (5), 1923. — G. C. Riquier, Agostino Bassi nel terzo cinquantenario della sua nascita — Riv. di Storia delle Scienze Mediche 15, (1—2), 1924. — Opere di Agostino Bassi, scelte e pubblicate a cura della Società Medico-chirurgica di Pavia, Tipogr. Cooperativa, Pavia, 1925.

Osservazioni comparative sulle specie del genere Malbranchea

per

E. Vaccari, E. Baldacci e R. Ciferri.

(*Istituto Botanico e R. Labor. Critt., R. Università di Pavia ed Istituto Botanico della Facoltà Agraria, R. Università di Firenze*).

Con la tavola VI.

(7.IX.1938.)

Il genere *Malbranchea* fu fondato nel 1882 da Saccardo con la specie *M. pulchella* Sacc. et Penz., specie che, raccolta da Malbranche in Francia su cartone umido, fu ritrovata nel 1908 da Saccardo in Italia su corda umida, ed una terza volta, sembra, in Olanda da Buisman che poté coltivarla. Soltanto nel 1925 Bolognesi e Chiurco isolano un ulteriore ceppo di questa specie da una micosi toracica di forma granulomatosa, specie che, inviata a Vuillemin, fu definita come nuova, *M. Bolognesii-Chiurcoi* Vuill. Poll. et Nann. Nel 1933 infine Kambayashi isola un ulteriore ceppo da una micosi a tipo tricofitico del cuoio capelluto, che fu pubblicato come *M. Kambayashii* Kamb.

Il ritrovamento di un quarto ceppo riferibile a questo genere, isolato da Rivelloni (1938) da una dermatosi di tipo eritemato-pustuloso del labbro superiore nell'uomo, e qualche dubbio nel definire la specie, ci ha indotto a rivedere comparativamente i quattro ceppi dei quali la *M. pulchella* gentilmente inviata dal Centraal Bureau voor Schimmelcultures di Baarn, la *M. Kambayashi* offertaci dal micopatologo giapponese e gli altri due ceppi da tempo conservati nella nostra micoteca.

I caratteri colturali furono esaminati comparativamente su una serie di terreni, sia in colonie entro tubi che in colonie giganti, tutte a 25 gradi di temp. Tali caratteristiche culturali osservate su terreno Pollacci, su terreno di Sabouraud, su agar al decotto di carota, su agar di fagioli, su pezzi di patata e su pezzi di carota, apparvero così simili che ci limitiamo ad indicare i pochi caratteri differenziali riscontrati.

Le colonie appaiono in generale a rapido sviluppo, fittamente cotonose, rilevate, liscie o dolcemente ondulate, ad orli netti o sfrangiati; da adulta può rimanere di colore bianchissimo ma generalmente acquista delle sfumature rosate o giallo-rosate, o color albicocco od anche grigio perla. Su alcuni terreni molto ricchi di sostanze idrocarbonate acquistano anche, soprattutto alla periferia, un colore cremeo sino a giallo. Tali caratteristiche permangono anche su terreni naturali solidi.

Su terreni liquidi lo sviluppo è scarso e tardivo con formazione di una colonietta superficiale (più spesso dapprima un anello) bianca, ben presto giallognola, con scarso deposito al fondo.

Le temperature ottime di sviluppo si aggirano intorno ai venti gradi centigradi. Da 30°C. a 37°C. lo sviluppo è nullo o quasi nullo ad eccezione del ceppo „R" [1]) che si sviluppa scarsamente.

Non fluidificano la gelatina o formano tardivamente una picola sacca di liquefazione.

L'assimilazione di varie sostanze azotate minerali od organiche su terreno minerale e saccarosato mostra una notevole indifferenza verso le diverse fonti di azoto saggiate (asparagina, nitrato di potassio, solfato d'ammonio) in cui sviluppano rigogliosamente. La sostanza azotata meno adatta alla vita del micete è il peptone.

[1]) Indichiamo con „C" il ceppo Buisman di *M. pulchella*; con „BC" il ceppo di Bolognesi e Chiurco di *M. Bolognesii-Chiurcoi* Vuill. Poll. Nann.; con ceppo „K" la *M. Kambayashi* Kamb., ceppo Kambayashi; e con „R" il ceppo Rivelloni di recente isolamento.

Circa i caratteri patogenetici, il ceppo „BC" fu saggiato da Bolognesi e Chiurco su ratti bianchi e cavie con formazione di granulomi e di focolai ulcerati. Il ceppo „K" fu saggiato da Kambayashi che accertò solo una debole patogenicità.

La micromorfologia e la morfogenesi della specie è molto uniforme e facile ad essere osservata sia in culture su ordinari tubi da saggio attraverso il vetro, sia in colonie su piastre mediocremente sviluppate, sia in culture alle Rivalier e Seydel.

In culture ben sviluppate si osserva un micelio ialino densamente ramoso e settato, di 2—2.5 μ diam., talvolta anastomosato. Sulle ife miceliche si differenzia un ramuscolo laterale, all'origine indistinto da una ramificazione miceliale, che si allunga di solito assumendo un aspetto sinuoso o ricurvato ad uncino, a pastorale o subelicoidale fino a brevemente spiralato. Quando quest'organo che abbiamo denominato „proconidio" ha raggiunto le sue massime dimensioni, si inizia la settazione indiferentemente in direzione centrifuga o centripeta, settazione che si arresta a breve distanza dall'inserzione del proconidio sull'ifa sterile individuando così un brevissimo tratto basilare non settato (ed in altro modo non distinto) che funziona da conidioforo. Il raggio di curvatura, il numero delle spire o, più spesso, la frazione di spira ed il senso della curvatura, sono variabili anche in una stessa cultura. Terminata la settazione, e dopo un variabile periodo di stasi, si inizia il processo di schizogenesi dei conidi per frammentazione successiva del proconidio, probabilmente iniziandosi dall'apice e proseguendo in direzione basipeta sino alla inserzione di questi sul conidioforo che rimane monco. La maturità del proconidio per la schizogenesi è segnata dalla differenziazione di un esosporio e di un endosporio per un probabile scollamento dei due elementi della tunica; ciò è evidente per l'irregolarità della sezione dell'esosporio in contrasto con la nitida sezione di scissione dell'endosporio, già evidente nei disegni di Kambayashi. Non sembra esistano altri organi di moltiplicazione; talvolta si osservano degli elementi acrogeni ed isolati all'apice di ife lunghette, sferici, piriformi o suballungati che in altre specie d'ifomiceti sono stati interpretati come depositi di materiale nutritizio di riserva.

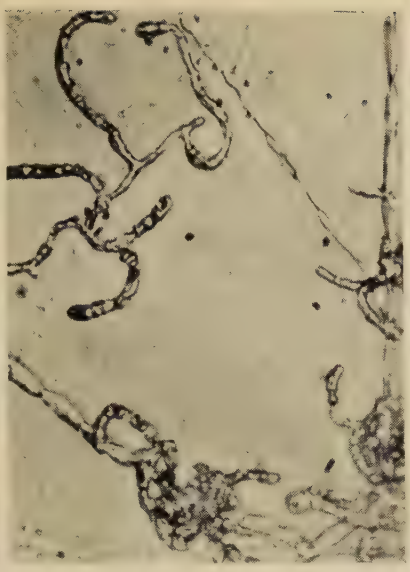
Le dimensioni degli elementi morfologici sono relativamente uniformi; le spore sono di 2.5—3 × 2 μ nel ceppo „B"; di 2.5—4.5 × 2.5 nel ceppo „BC"; di 3—5.5 × 2.5—3.5 nel ceppo „K", ed infine di 6.5—6.5 × 3—4 nel ceppo „R".

Con colorazione alla ematossilina ferrica di Heidenheim, previo fissaggio con vapori di formalina, di culture su strati sottili di agar (Rivalier e Seydel) si mette in evidenza la presenza di un nucleo per ognuna delle cellule degli apici miceliali. Il proconidio è plurinucleato possedendo generalmente un nucleo per ognuna delle cellette intersettali che generalmente sono rigonfiate rispetto ai setti ove il proconidio avanti la maturità è strangolato leggermente.

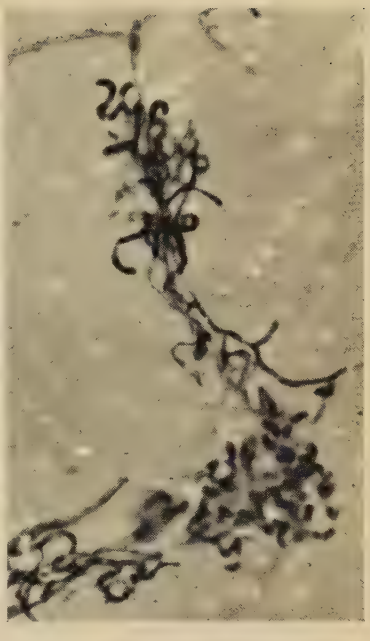
La posizione sistematica del genere non pare sia stata oggetto di particolari studi. Per i trattatisti della scuola di Saccardo, a cominciare da questo micologo, è una mucedinacea della tribù Oosporeae. Solo Vuillemin (1931) lo pone nell'ordine mal definito ed eterogeneo degli Endosporei. Più recentemente ancora Dodge (1935) che considera soltanto la *M. Bolognesii-Chiurcoi*, pone *Malbranchea* in sinonimia ad *Actinomyces* creando la combinazione *Actinomyces Bolognesii-Chiurcoi*.

Il primo problema concerne la portata ed il significato del fenomeno di endosporulazione. Una vera endosporulazione (produzione di spore in un sifone o tubulo conidiogeno continuo con eiezione delle spore stesse attraverso un pertugio d'uscita) era supposta già da Saccardo, e quindi ipoteticamente ammessa da micologi ulteriori. Alcune figure, come quelle di Saccardo (1908) e di Pollacci e Nannizzi (1925) starebbero a dimostrare la presenza di veri endoconidiogeni con produzione di autentici endoconidi. Questo non è il caso di *Malbranchea* ove la formazione di endoconidi presuppone che, avvenuta la eiezione delle spore, rimanga il sifone svuotato del contenuto che invece non si trova mai; in particolare il proconidio, come si è visto, si frammenta in conidi in toto. E' vero che in ife vecchie possono osservarsi dei tratti a protoplasma limitato in isolotti discontinui ed alternati a porzioni prive di protoplasma; tali formazioni possono, se osser-

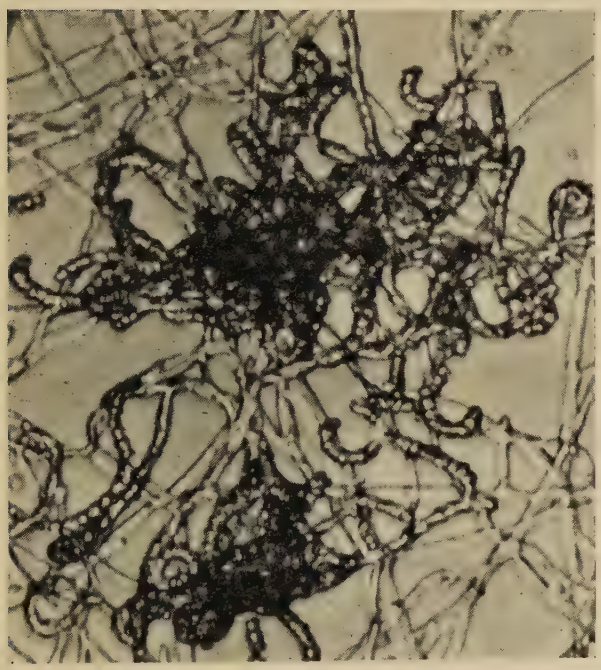
1



2



3



4

Fig. 1. *Malbranchea* (ceppo "Rivelloni"), aspetto dei "proconidi" avanti l'inizio della settazione.

Fig. 2. *Malbranchea* (ceppo "Rivelloni"), "proconidi" in tipica settazione.

Fig. 3. *Malbranchea* (ceppo "Bologlesi e Chiurco"), accanto ad alcuni "proconidi" settati si nota il fenomeno della schizogenesi.

Fig. 4. *Malbranchea* (ceppo "Rivelloni") aspetto generale di un centro fruttifero di "proconidi" in settazione tipica avanzata.

vate superficialmente, simulare una endogenerazione di elementi morfologici che hanno indotto in errore i ricercatori anche per altri funghi.

Si può invece discutere se il fenomeno della disarticolazione del proconidio in articoli sia da considerare come una pseudoendosporulazione, fenomeno molto vario nelle sue manifestazioni ed in quest'ultimo ventennio segnalato in vari generi. Se si ammette che l'individualità somatica dei conidi preesista nel proconidio, quest'ultimo organo potrebbe essere considerato come di origine pseudoendogena. In tal caso i conidi seriati sarebbero formati e racchiusi in una tunica (costituente l'esosporio del conidio) da cui si libererebbero non per eiezione, come nei miceti sifonati, ma per irregolare dissezione dell'esosporio all'incirca in corrispondenza della congiunzione dei conidi. L'indipendenza del tubo conidiogeno dal proconidio è marcata, nella fase di prematurazione, dalle strozzature in corrispondenza dei setti e dall'irregolarità di sezione dell'esosporio dei singoli conidi contrastante con la regolarità della scissione in rapporto all'endosporio di cui si è parlato. Nel considerare la generazione dei conidi come pseudoendogena ci conforta la constatazione che tra le molte modalità con le quali si manifesta questo fenomeno ve ne è una di particolare interesse in un gruppo di miceti che hanno morfologicamente una certa analogia con le *Malbranchea*: il gruppo degli Helicosporei quale è stato monograficamente rivisto da Lindner (1929 e 1931). Quivi questa indipendenza si manifesta per uno sfaldamento preliminare dell'esosporio del conidio, che soltanto allora è atto a germinare. Ma le analogie del proconidio di *Malbranchea* con i conidi ad elica o spiralati degli Helicosporei (particolarmente di *Helicoma* ed *Helichoon*) è solo apparente in quanto il proconidio è solo la fase preliminare di generazione dei veri conidi continui, mentre le elicospore degli Helicosporei rappresentano ognuna una entità riproduttiva ben definita.

La disgiunzione progressiva degli elementi riproduttivi del proconidio si assimila male anche ad una artrosporulazione quale si osserva nei tipici artrosporei, ad esempio *Geotrichum*. Quivi la disarticolazione degli elementi, puré basipeta, segue ed in qualche caso è quasi simultanea, alla settazione preliminare delle ife miceliche, e si continua indefinitamente senza riguardo alla natura delle ife miceliche atte a riprodursi. In *Malbranchea* invece la settazione è completa prima della disarticolazione mentre settazione e disarticolazione sono limitate a sedi definite in organi definiti. Questo equivale a dire che l'organo di moltiplicazione degli Artrosporei è una tallospora mentre quello di *Malbranchea* è un conidio.

Maggiori analogie si avrebbero con le modalità riproduttive di un altro fungo parassita dell'uomo ed ospite frequente dell'ambiente esterno: lo *Sporendonema epizoum* (Corda) Cif. et Red. che uno di noi in collaborazione con Redaelli (1934) ebbe occasione di studiare in dettaglio. Già dalle osservazioni di Vuillemin (1906) si deduce che questo micete, che egli denominò *Hemispora stellata*, possiede uno stadio quasi-conidico preliminare (protoconidio od emispora) con ife differenziate solo da una fitta settazione trasversale che prelude alla sua disarticolazione in spore (deuteroconidio). Nella rielaborazione del 1931, il "protoconidio" viene appunto denominato "proconidio" ammettendo che per schizogenesi dia origine ad una catenella di artrospore. Già Guéguen (1912) aveva effettuato delle osservazioni sull'endogenia dei conidi di *Sporendonema* che possono riferirsi in gran parte al fenomeno della sporogenesi di *Malbranchea*. Le differenze tra i due generi, oltre che nel colore degli organi vegetativi e riproduttivi, sono da riscontrarsi nella presenza o meno di avvolgimenti a spirale dei proconidi e nella morfologia di questi.

Altre analogie ancor più superficiali, data la fondamentalmente diversa costituzione citologica in riguardo al nucleo, si ha con gli *Actinomyces* nei quali il fenomeno della artrosporulazione è un poco più complicato di quanto non si abbia nei veri artrosporei

(ad esempio in *Geotrichum*) a cominciare dal fatto che le ife spiralate hanno generalmente un diametro maggiore che quelle vegetative. Drechsler (1919) che ha meglio di ogni altro studiato il fenomeno, ammette tre diverse modalità del processo; ma, fondamentalmente, la spora, generata per schizogenesi in *Actinomyces*, ha il valore di una tallospora più evoluta che in *Geotrichum* a causa della localizzazione obbligata delle ife destinate a scindersi ed a causa della settazione completa vanti l'inizio della schizogenesi. Però l'organo di moltiplicazione di *Actinomyces* è meno differenziato del conidio di *Malbranchea* per la presenza, alla base del proconidio, di un conidioforo.

Ci pare quindi possibile riconfermare che le modalità di genesi delle spore di *Malbranchea*, *Actinomyces*, *Sporendonema*, *Geotrichum* sono altrettante "facies" di un fenomeno di moltiplicazione primitiva che in questo ultimo genere conduce alla formazione di una vera tallospora, mentre in *Malbranchea* porta alla formazione di veri conidi, negli altri generi assumendo degli aspetti intermediarii e mal definibili tra l'una e l'altra forma. Se vi possano essere dei rapporti tra queste modalità moltiplicative ed il fatto che tutti questi generi sono parassiti, generalmente debolmente patogeni per l'uomo, non sapremmo dire: non si potrebbe però scartare a priori l'ammissione di una convergenza nella morfogenesi moltiplicativa indotta secondariamente dalla comunanza dell'ambiente di eventuale parassitismo (uomo od animale) su forme dell'ambiente esterno, principalmente terricole. L'ammissione di Saccardo (1908) circa identità di *Thermoidium* Miehe (1907) con *Malbranchea* è ancora da rivedere; non è però impossibile che alcune forme affini a *Thermoidium* come *Sporendonema* (s.s.) *casei* Desm. sieno da riportare a *Malbranchea*.

Non è però possibile ammettere una identità tra *Actinomyces* e *Malbranchea*, avanti tutto per la presenza di un definito nucleo nelle specie del secondo genere che manca invece in quelle del primo.

In base a quanto si è esposto non è neppure possibile differenziare in seno al genere varie specie; le piccole differenze nelle caratteristiche colturali e micromorfologiche offerte da vari ceppi sono in rapporto alla durata della vita in coltura del fungo e, nel caso specifico, dal più recente isolamento del ceppo "R". Ci conforta in questa constatazione la constatazione da parte della Signorina Westerdijk di variazioni verificatesi durante la permanenza in coltura del ceppo a Baarn. Per conseguenza riteniamo dover ammettere come specie del genere la sola *Malbranchea pulchella* Sacc. et Penz. alla quale vanno riferiti in sinonimia la *M. Blognesii-Chiurcoi* e la *M. Kambayashii*.

Summary

The comparative study of *Malbranchea pulchella*, *M. Bolognesii-Chiurcoi* (two strains) and *M. Kambayashii* (the two last named species also on original strains) ascertained the identity of species. In spite of superficial analogies with the thallospores (arthrospores) of *Actinomyces* and *Geotrichum*, the sporulation in *Malbranchea* ends to the formation of true conidia; through the generation of a proconidium allied to the same organ of *Sporendonema*. Between true arthrospores and true conidia intermediate morphologies are recognizable in many genera. The generation of the proconidium and the schizogenese of conidia may be interpreted as a pseudo-endosporulation, not a true endosporulation. The affinities with Helicosporous fungi are only superficial.

Bibliografia

Baldacci E., Atti Istit. Bot. Pavia, serie IV, **9**, 243—272 e 299—316 (1937); **10**, 125—161 e 321—332, (1938). — Bolognesi G. e Chiurco G. A., Archivi di Biologia, **1**, (5/6), (1925). — Bostroem, Beit. z. pathol. Anat. u. all. Pathol., **9**, 1—240 (1890). — Ciferri R. e Redaelli P., Atti Istit. Bot. Pavia, serie IV, **5**, 145, (1934). — Costantin J., Les Mucedinées simples. Paris. (1888). — Dodge C. W., Medical Mycology. St. Louis (1935). — Drechsler C., The botanical Gazette, **57**, 65 e 145 (1919). — Duché J., Les Actinomyces du groupe albus. Paris (1934). — Ferraris T., Hyphales, in Flora Italica Cryptogama. — Gasperini G., Ann.de Micrographie, **2** (10 et 11), (1890); Atti Soc. Tosc. Sc. Mat., anno V, **8**, 267 (1891); ibidem **9**, 64 (1894). — Grigoraki L., C. R. Acad. Sc., **193**, 540 (1931); Ibidem **194**, 641 (1932); Revue de Mycol., **1** (1), 37. — Kambayashi T., Arch. f. Derm. u. Syphil., **170**, (1), 97 (1933). — Lachner-Sandoval V., Ueber Strahlenpilze, (1898). — Lindau G., Fungi Imperfecti, in Rabenhorst, Krypt. Fl. v. Deutsch., II Aufl., VIII Abth., Leipzig (1907). — Lindner D. H., Ann. of the Missouri Bot. Gard., **16**, 227, (1929); ibidem **18**, 1 (1931). — Miehe H., Berich. d. deutsch. Pot. Gesell., **25**, 515 (1907). — Neukirch H., Ueber Strahlenpilze, (1902). — Ørskov, J., Investigations into the morphology of the ray fungi. Copenhagen (1923). — Pollacci G., Atti Istit. Bot. Pavia, serie IV, **9**. 323, (1937). — Pollacci G. e Nannizzi A., I miceti patogeni dell'uomo e degli animali, (5), N. 45 (1926). — Nannizzi A., Repertorio sistematico dei miceti dell'uomo e degli animali. Siena (1934). — Puntoni V., Ann. d'Igiene, **41**, (1) (1931). — Rivelloni G., Boll. Sez. Reg. (Suppl. Gior. Ital. Dermat. e Sifil.), **16**, 384 (1937). — Rossi-Doria E. D., Ann. dell'Istit. Igiene, Roma, 1892. — Saccardo P. A., Michelia, **2**, 639 (1882); Sylloge Fungorum etc., **4**, pars II° (1888); Ibidem **22**, pars IX, 1240 (1913); Annales Mycologici, **6**, 557 (1908). — Sauvageau C. et Radais M., Ann. Inst. Pasteur, **6**, 242 (1892). — Schütze H., Arch. Hygiene, **67**, 35 (1908). — Vuillemin P., Les Champignons parasistes et les mycoses de l'homme, Paris (1931).

Identificazione di alcuni lieviti isolati da pasta di legno

per

G. Goidànich, R. Ciferri e P. Redaelli.

(*dalla R. Stazione di Patologia Vegetale di Roma, Istituto Botanico della Facoltà Agraria, R. Università di Firenze ed Istituto di Anat. Patologica, R. Università di Pavia*)

(10.X.1938.)

Nello scorso anno da uno di noi (Goidànich) fu affidato agli altri lo studio di dieci ceppi di lieviti in cultura isolati dalla pasta-legno per la fabbricazione della carta. Rimandando allo studio di Goidànich (1937) per l'origine del materiale d'isolamento oltre che per lo studio dei microorganismi fungini diversi dai lieviti, ci è parso opportuno riferire in questa sede i risultati ottenuti dallo studio dei ceppi lievitiformi, in quanto varie delle specie identificate sono state descritte od indicate quali interessanti anche la patologia umana. Si portano così ulteriori esempi oltre a quelli già resi noti (Verona e Ciferri 1938; Redaelli, Castelli e Ciferri, 1938) di ritrovamento quali saprofiti di lieviti in precedenza ritenuti come esclusivamente appartenenti al gruppo dei funghi interessanti la medicina umana. Con ciò si conferma il complesso delle vedute che considerano i lieviti patogeni degli animali a sangue caldo come specie saprofite che sotto condizioni peculiari si adattano alla nuova matrice speciale, solo acquistando o mantenendo talora qualche particolarità biologica che non incide tuttavia sul complesso degli elementi di determinazione e di sistemazione dei lieviti stessi. Dal che, la necessità di rivedere criticamente i lieviti sino ad oggi descritti senza tenere particolarmente in considerazione le caratteristiche degli „habitat", fondendo i lieviti cosidetti „medici" e quelli che sono oggetto di studio da parte di micologi e di zimologi in un unico quadro sistematico.

Ceppo N. 15.
(N. 432 Prof. Goidànich, isolato da pasta di legno).

Caratteri culturali: terreni solidi: patina bianca cremosa non molto spessa, uniforme, abbondante in superficie che, nelle culture appena un poco sviluppate, appare dapprima zigrinata poi uniformemente e regolarmente cerebroide, liscia, lucente in superficie. Terreni liquidi: accenno ad anello incompleto, fondo abbondante.

Caratteri micromorfologici: (studiati in terreni liquidi, solidi e col metodo Rivalier e Seydel) quelli tipici del genere *Mycotorula* con qualche accenno a *Mycotoruloides;* in genere l'apparato filamentoso non è molto abbondante e quindi i caratteri generali sono piuttosto semplici e degradati.

Caratteri biochimici: non fermenta idrati di carbonio (acidifica nella quarta giornata solo il levulosio e il galattosio); assimila con fatica tutti gli idrati di carbonio; assimila bene il peptone, male le altre fonti di azoto (solfato d'ammonio, asparagina, urea, nitrato di potassio).

Identificazione: Mycotorula zeylanoides (Castellani) Red. et Cif.

Il ceppo in studio, per quel tanto che é possibile dedurre allo stato attuale delle nostre conoscenze, può essere riferito alla specie succitata che sino ad ora era stata isolata solo da materiale patologico umano (a Ceylon, negli Stati Uniti d'America ed in Italia). Concordemente a quanto si é accertato in questi ultimi anni nei riguardi di molte specie patogene, anche questa specie ha probabilmente una diffusione più universale, geograficamente e per „substratum", di quanto non si fosse supposto.

Ceppo N. 17
(N. 434 Prof. Goidànich, isolato da pasta di legno).

Caratteri culturali: in terreni solidi: sviluppo di patina molto abbondante, spessa, di colorito giallastro che tende ad ocraceo quando invecchia, lucidissima in superficie, margini rotondi, grossi, patina tipicamente mucosa (ricorda molto da vicino le colonie di *Debaryomyces neoformans*). Nelle culture più vecchie, meno lucide e viscide, la superficie tende a farsi rugosa, cerebroide, fino a nettamente cerebroide. In terreni liquidi, fondo abbondante ed anello incompleto.

Caratteri micromorfologici: in vetrino alla Rivalier-Seydel la morfologia è quella di una rigogliosa *Mycotorula* con ampia componente di *Mycotoruloides* ad apparato filamentoso abbondante e ramificato, blastospore tutte tendenzialmente ovalari, ellittiche ed allungate.

Caratteri biochimici: non fermenta gli idrati di carbonio, acidifica solo glucosio, levulosio e maltosio; assimila discretamente questi tre zuccheri, difficilmente gli altri; assimila bene l'azoto dal solfato d'ammonio e dall'urea, meno bene dal peptone, dall'asparagina e dal nitrato potassico.

Identificazione: la specie appartiene decisamente al genere *Mycotorula* (compreso *Mycotoruloides*).

Si differenzia dalla altre specie del genere *Mycotorula* che abbiamo avuto sin quì occasione di studiare in quanto le culture sono viscide, o mucose (e non cremose e dense) e gialliccie sino ad ocracee (e non bianche o bianco-giallastre). Queste caratteristiche sono insolite in una specie di questo genere e, come abbiamo notato, a prima vista la cultura assomiglia molto a quelle tipicamente mucose e giallastre semifluide del *Debaryomyces neoformans*, differendone naturalmente per l'assenza di ascospore e per la morfologia dell'apparato blastosporeo.

Da un esame della letteratura sui lieviti asporigeni con apparato pseudomiceliale, per quel tanto che é permesso dalla confusione tuttora esistente in questo gruppo, vi é una certa probabilità che il nostro ceppo possa essere reidentificato con il *Parendomyces albus* Queyrat et Laroche (Bull. Soc. Méd. Hop. Paris, III, 28, 115, 1909) che sembra sia stato isolato una sola volta da un caso di forma vaginale simile a „mughetto" in Francia, e patogeno in condizioni sperimentali per gli animali da laboratorio. Ma la descrizione, ampia per quanto si riferisce ai caratteri culturali, é molto incompleta per quelli morfologici e quasi nulla per quelli biochimici. In tal modo non é possibile altro che segnalare questa probabile analogia. Preferiamo quindi, in attesa di una più completa revisione delle *Mycotorula*, descrivere il ceppo come una nuova specie „ad interim":

Mycotorula mucinosa nobis n.sp. ad interim

In agaro coloniis flavidulis usque subochraceis, typice mucosis dein plus vel minus cerebroideis; in fluido cultis sine velo sed cum annulo et sedimento. Morphologia ut in Mycotorula bene evoluta, blastosporis ovatis vel ellipticis aut elongatis. Fermentationem alcoholicam non inducit; valide assimilat glucosium, levulosium, maltosium; ed valide assimilat ammonium sulphatum et uream. Habitat: in ligno ob confetionem chartae macerato, in Italia.

Ceppo N. 18.
(N. 431, Prof. Goidànich, isolato da pasta di legno).

Caratteri culturali: in terreni solidi: colonia abbondante, piuttosto piana, biancastra e giallastra, pochissimo sopraelevata nel centro dove è più opaca e bianca, margini sottili giallastri semitrasparenti, lievemente striati nel senso del raggio. In terreni liquidi accenno ad anello, fondo discreto.

Caratteri micromorfologici: assenza di apparato filamentoso in ogni substrato, solo blastospore globose, rotondeggianti, di dimensioni da 5—6 μ sino a 5—7.5. Elementi isolati o raggruppati in catenelle di pochi elementi gemmanti. Assenza di aschi.

Caratteri biochimici: assente la fermentazione alcoolica degli idrati di carbonio che

sono malamente assimilati; assimilazione dell'azoto dal peptone buona, scarsa o nulla dalle altre fonti (solfato d'ammonio, asparagina, urea, nitrato potassico).

Identificazione: nelle sue caratteristiche coincide bene con la *Torulopsis albida* (Saito) Lodder, inizialmente isolata dall'aria in Giappone. I soli caratteri differenziali tra il nostro ceppo e quello giapponese, secondo la descrizione di Saito (Jap. J. Bot. **1**, 1, pag. 1923), di Harrison (Trans. R. Soc. Canad. **22**, 187, 1928) e Lodder (Anask. Hefen, 1°, 162, 1934) consistono nell'assimilazione buona del peptone e soltanto scarsa sino a nulla del solfato d'ammonio, dell'asparagina, dell'urea e del nitrato potassico, mentre che per la *Torulopsis albida* è indicata una identica assimilazione delle cinque sostanze azotate. Non crediamo però che una differenza in questa sola caratteristica possa avere interesse per una differenziazione anche di varietà del nostro ceppo che, dato il substrato di isolamento originale ed il nostro, possiede probabilmente attitudini saprofitarie.

Ceppo N. 16.

(N. 435 Prof. Goidànich; isolato dall' aria di una fabbrica di pasta di legno).

Caratteri culturali: in terreni solidi: patina molto sottile, però forte e tenace al substrato, costituita dall'agglomerato di molte colonie rotonde, piane o lievemente rilevate nel centro con sottilissima striatura nel senso del raggio; superficie liscia e poco lucente, colore giallastro, semitrasparenti. In terreni liquidi scarso sviluppo al fondo senza anello.

Caratteri micromorfologici: (studiati nei terreni solidi, liquidi e col metodo Rivalier e Seydel); assenza di apparato filamentoso, notevole polimorfismo e polimetricismo degli elementi blastosporei: elementi più grandi, globosi, rotondi o leggermente ovalari, 5.5—6 μ di diam.; e molti elementi più piccoli, ovalari, ellittici riuniti in catenelle di 3 o 4 elementi gemmanti. Qualche accenno ad elementi in apparente coniugazione (senza ulteriore seguito).

Caratteri biochimici: assente la fermentazione alcoolica degli zuccheri; acidificazione (in quarta giornata) del glucosio, levulosio, maltosio. Scarsa l'assimilazione degli idrati di carbonio; assimila bene il peptone; scarsa o nulla l'assimilazione di solfato d'ammonio, asparagina, urea, nitrato potassico.

Identificazione: Torulopsis albida (Saito) Lodder. Per la discussione vedasi al ceppo N. 18.

Ceppo N. 19.

(N. 427, Prof. Goidànich, isolato da pasta di legno).

Caratteri culturali: in terreni solidi patina abbondante, bianca, con una zona centrale spessa, irregolarmente zigrinata sino a quasi cerebroide, una periferica a fascia, più sottile, sino a margini lisci o finemente plumosi, striata nel senso del raggio. La superfice é opaca nel centro. In terreni liquidi: anello completo ed, in superficie, anche coloniette natanti; colonna di liquido lievemente torbida, fondo abbondante.

Caratteri micromorfologici: in terreni liquidi e solidi accenno ad apparato filamentoso in elementi allungati, filiformi, portanti all'estremità una cellula rotonda; manca però in ogni caso un' organizzazione delle blastospore in verticilli definiti; blastospore estremamente polimorfe e polimetriche da piccole rotonde (anzi piccolissime) o lievemente ovali, a più grandi rotonde con gocciola oleosa, raggruppate in catenelle o rosette; forme allungate, rettangolari, tozze, deformi, piriformi, con elementi gemmanti ad uno dei poli o degli angoli; in ogni caso é molto spiccato un polimorfismo cellulare.

Caratteri biochimici: non fermenta gli idrati di carbonio, acidifica il glucosio, il levulosio ed il galattosio; scarsa l'assimilazione degli zuccheri; assimilazione buona dell'azoto peptone, solfato d'ammonio ed urea; scarsa dall'asparagina e dal nitrato potassico.

Identificazione: nonostante la presenza di accenni ad un apparato filamentoso rudimentale (tipo *Blastodendrion*), il ceppo potrebbe essere considerato come *Torulopsis minor* (Pollacci e Nannizzi) Lodder che fu primitivamente isolato in Italia da Pollacci da un caso di psoriasi, ma che probabilmente é molto più diffuso e con probabile esclusiva attività saprofitaria.

Ceppo N. 21.

(N. 429, Prof. Goidànich, isolato dall' aria di una fabbrica di pasta di legno).

Caratteri culturali: colonie cremose, dense, piane inizialmente quasi trasparenti, poi

sempre più intensamente color rosa fior di pesco; la superficie si fa irregolare con tendenza a sollevamenti irregolarmente cerebroidi con margine più o meno sopraelevato a cercine sulla parte centrale della colonia .Dove é più densa, la superficie della colonia non é lucida.

Caratteri micromorfologici: costituita da blastospore che in corrispondenza dei margini compatti si allungano in formazioni di ramuscoli di due o tre saldate in catena; blastospore ovalari allungate. Apparente assenza di pseudomicelio.

Caratteri biochimici: fluidifica tardivamente la gelatina; assimilazione delle sostanze azotate: peptone +, solfato d'ammonio ++, asparagina +++, nitrato di potassio —.

Identificazione: questo ceppo appare riferibile allo *Sporobolomyces Shibatanus* (Okonuki) Ver. et. Cif., finora noto soltanto in giappone ove fu isolato dall'Okonuki (Jap. J. Bot. **5**, 285, 1931) dall'aria. Probabilmente la specie non ha che attitudini saprofitarie.

Ceppo N. 23.

(N. 428 Prof. Goidànich, isolato da pasta di legno).

Le caratteristiche culturali e micromorfologiche sono identiche a quelle del ceppo N. 22.

I caratteri biochimici differenziali egualmente identici a quelli del N. 22 salvo l'intensità delle assimilazioni per il solfato d'ammonio e l'asparagina che sono rispettivamente ++ e +++.

Identificazione: Sporobolomyces salmonicolor (Fisch. et Breb.) Kluyv. et v. Niel (var. *typicus* Cif. et Ver.).

Ceppo N. 22.

(N. 430, Prof. Goidànich, isolato da pasta di legno.)

Caratteri culturali: colonie color rosso mattone, cremose, dense.

Caratteri micromorfologici: all'inizio coloniette costituite da cellule ovalari allungate. Più tardi dalla superficie delle coloniette partono delle formazioni ifali che in parte si fanno aeree, a filamenti semplici non o scarsamente ramificati e portanti apicalmente una blastospora.

Successivamente si osservano anche filamenti lunghi non o poco ramificati. Si distaccano dalle formazioni miceliali dei „conidi" che sono tipici del genere *Sporobolomyces*.

Le colonie danno il caratteristico fenomeno della fotografia di loro stesse sul coperchio della capsula di vetro quando vengono rovesciate.

Caratteri biochimici: assimila il maltosio. Assimilazione delle sostanze azotate: peptone +, solfato d'ammonio +++, asparagina ++, nitrato —.

Identificazione: questo ceppo apparisce simile al comune *Sporobolomyces salmonicolor* (Fisch et Breb.) Kluyv. et v. Niel (var. *typicus* Cif. et Ver.) comune e cosmopolita saprofita su substrati molto svariati.

Summary

Several species of yeasts isolated from wood-pulp used for paper manufacture were studied. A few species were previously found also as parasitic of men; one (*Mycotorula mucinosa*) is new for the science.

Letteratura

Goidànich, G., Boll. Reg. Staz. Pat. Veg., Roma, **17**, 1—166 (1937) (1938). — Redaelli, P., Castelli, T., e Ciferri, R., Mycopathologia **1**, (3) 182—184 (1938). — Verona, O. e Ciferri, R., Mycopathologia, **1** (4) (1938).

Micosis generalizada y mortal por Trichosporon proteolyticum n. sp.

por los

Dres. Pablo Negroni y T. de Villafañe Lastra.

(*Instituto Bacteriológico del Dep. Nac. de Higiene, Buenos Aires*))

Con láminas VII–VIII.

(1.XII.1938.)

Nos parece de utilidad la publicación de este caso por tratarse de una micosis de origen pulmonar con focos metastásicos en el tejido celular subcutáneo producida por un hongo nuevo cuyo estudio micológico se detalla.

El 20 de Enero de 1938, fué consultado uno de nosotros por el Sr. C. T. argentino de 41 años, casado, domiciliado en Serrezuela (Prov. de Córdoba) y dedicado a quehaceres mixtos agricola-ganaderos.

Antecedentes hereditarios: El padre falleció a los 69 años de neumonia y la madre a los 65 de una affección hepática. Han sido cuatro hermanos: una falleció de parto, otro es retardado, un tercero vive y es sano y el cuarto ha sido nuestro enfermo. Se casó a los 28 años y tuvo seis hijos que son sanos.

Antecedentes personales: la único de cierto interés es que en Septiembre de 1936 le extrajeron todas las piezas dentarias por consejo de un odontólogo quien le diagnosticó piorrea. La última extracción fué en Agosto de 1937.

Enfermedad actual: El enfermo manifiestó que desde la última extracción dentaria comenzó a sentirse mal, decaído, con moderada pérdida de peso, inapetencia y sensación de frío, sepecialmente por las tardes. Todas estas molestias fueron aumentando paulatinamente y como en los primeros dias de Diciembre de 1937 tuviera intensos escalofríos y 40° de temperatura, decidió consultar a un médico. Este facultativo comprobó la existencia de una discreta tos quintosa, ligera disnea, temperatura vesperal de 39°,6, lengua saburral con bordes rojos y pulso regular y relativamente lento. Como síntomas subjetivos: dolores sordos en diversas partes del torax y marcado estado nervioso.

Al examen físico solo se comprobó en esa oportunidad, vibraciones aumentadas, discreta submatidez, y respiración ruda en la base del pulmón izquierdo.

Las reacciones de Wright, Widal y Weil-Felix, fueron todas negativas.

Segun informes suministrados por el médico que atendió a nuestro enfermo por primera vez, la curva termica se prolongó irregularmente con oscilaciones diarias siempre superiores a un grado, pero con un marcado descenso de la máxima. Los signos subjetivos y funcionales se habían atenuado en parte, especialmente la disnea y la tos.

El 20 de Enero de 1938 fué examinado por nosotros, encontrándonos con un enfermo en regular estado de nutrición, de 55 kgs. de peso, muy pálido, pulso 130, rítimico, tensión 13,5—7,5 y 39°,8 de temperature.

Tenía tos discreta con espectoración muco-puro-sanguinolenta.

Examen físico. Boca: faltaban todas las piezas dentarias, sin presentar las arcadas, caracteres dignos de mención.

Torax: submatidez en la parte alta del espacio escapulo-vertebral derecho, no existiendo modificaciones auscultatorias dignas de mención.

En los restantes aparatos: nada de especial. No existían ganglios palpables.

La radioscopía permitió apreciar la existencia de una sombra densa para-mediastinal derecha que desde el hilio se estendía hasta la altura de la clavícula. Hilio derecho aumentado, con marcada arborización.

La radiografía obtenida ese mismo dia confirmó la existencia de la misma sombra densa acusada por la radioscopía, pero además, de la parte superior y externa de la

misma nacían finas ramificaciones que invadían la región sub-clavicular del pulmón derecho hasta su parte mas externa, con el aspecto de una infiltración a ese nivel. Pleuritis capilar por debajo de la arcada posterior de la 7a. costilla (fig. 1).

Las repetidas investigaciones del bacilo de Koch en los esputos, fueron siempre negativas.

El enfermo fué mantenido en observación, con tónicos generales y medicación antitóxica sin conseguirse mejoría ni regresión de ninguno de sus síntomas; por el contrario en enfermo se desnutrió y sentía un acentuado quebrantamiento del estado general. La temperatura oscilaba entre 37°,5 por las mañanas y 39°,5—40°, aun más, por las tardes. No hubo modificación de la tos, de la espectoración ni de los signos físicos pulmonares.

10 de Febrero de 1938: El mismo estado general. El enfermo se quejaba de dolor en el pie derecho, cuyo examen permittó sospechar la existencia de un absceso profundo en la garganta del pie.

15 de Febrero de 1938: Existían signos francos de colección purulenta en la garganta del pie derecho y se comprobó la aparición de un pequeño absceso en la parte superior de la región frontal. Se puncionó el absceso de la garganta del pie y se extrajo unos 20 cm^3 de un pus gomoso y homogéneo.

El 20 de Febrero de 1938 apareció un absceso en la región esternal inferior en la proximidad del apéndice xifoides y otro en la región escapulo-humeral izquierda.

En los primeros dias de Marzo de 1938 se formó un absceso en la parte interna del labio inferior, sobre la mucosa, el que alcanzó el tamaño de una nuez sin ulcerarse.

El estado general fué empeorándose sensiblemente, produciéndose una acentuada desnutrición. Finalmente el enfermo falleció el 29 de Marzo de 1938.

Examen micologico.

Aspecto del parásito en las lesiones: Los examenes microscópicos del pus extraído de las lesiones, así como la obtención de los primeros cultivos, fueron efectuados por el Dr. Eduardo Rennella a quien agradecemos vivamente.

En los examenes microscópicos del pus no se observaron filamentos y sí *elementos levuriformes rodeados de una capa gelatinosa.*

Las siembras del pus en los medios azucarados permitieron obtener, en varias oportunidades, cultivos puros del hongo que pasamos a describir.

Aspecto macro-morfológico.

Las descripciones que van a continuación se refieren a cultivos de 20 dias a temperatura ambiente (alrededor de 20°), siendo sembrados el 11 de marzo y observados el 1° de abril. Los medios sólidos de cultivo fueron distribuidos en tubos de ensayo e inclinados en pico de clarinete.

En el *medio de Czapek*: No se observa desarrollo en la superficie y el micelio que penetra en la profundidad del medio, es abundante, hialino y con zonas concéntricas (zonado).

En el *medio de Czapek* (fórmula de Mosseray): El desarrollo presenta los mismos caracteres que en el medio anterior.

En el *agar-caldo*: Colonia de 2 cms. y $^1/_2$ de diámetro, lanosa y blanca, con un borde plano como de 2 mm., lampiño y grisaceo. Reverso: amarillento parduzco, con esbozos de círculos concéntricos (zonación).

Agar-caldo glucosado: Colonia como de 2 y $^1/_2$ cms. de diámetro, plana, circular, vellosa, de color blanco sucio y con zonas concéntricas. Reverso: amarillento, con círculos radiados y esbozo de zonación.

En *agar-caldo glicerinado.* Colonia circular, plana, de unos 3 cms. de diámetro, blanquecina, muy vellosa (casi lanosa), ligeramente zonada y con un botón central que representa el punto de inoculación. Reverso: amarillento parduzco, no plegado.

En *agar-mosto:* Colonia de unos 4 y $^1/_2$ cms. de diámetro, circular, plana, lampiña, grisacea, ligeramente brillante, con un boton central saliente de 1 cm. de diámetro y con numerosos pliegues finos radialmente dispuestos. Existe una zona periférica blanca y lanosa.

En *agar-miel* (fórmula de Sabouraud): Colonia circular, plana, lampiña, grisacea, de unos 4 y $^1/_2$ cms. de diámetro, ligeramente brillante y con el aspecto de una escarapela

por los varios círculos concéntricos que posee, teniendo el central 1 cm. de diámetro mas o menos y con varios funículos. En la superficie de la colonia existen surcos radiados poco profundos.

Reverso: incoloro, no plegado.

En *agar-papa:* El desarrollo en la superficie es sumamente escaso. En la profundidad, tiene los mismos caracteres que en el medio de Czapek. Existe una zona lanosa en la extremidad del medio donde este está seco y pegado al vidrio (extremo del pico de clarinete).

En *agar-papa glucosado:* El desarrollo en la superficie es escaso como un lanugo blanco y zonado. En la profundidad del medio es abundante.

En *zanahoria:* Desarrollo moderado, lanoso y blanco.

En *caldo-glicerinado:* Formación de un copo blanco y grande en el fondo.

En *mosto de cerveza líquido:* Película gruesa y lampiña que impide caer el medio cuando se invierte el tubo. Algunos copitos en suspensión.

Caracteres micro-morfológicos.

En el *medio de Czapek*: el micelio es onduloso, tabicado y ramificado, mide 1,5 a 3 micra de diámetro y presenta órganos nodulares, dilataciones debajo de algunos tabiques y anastomosis.

En el *medio de Czapek* (fórmula de Mosseray): presenta esbozo de micelio en raqueta, llegando a medir hasta 6,12 micra de diámetro en los extremos dilatados.

En el *agar-papa*, el examen microscópico de la zona lanosa, donde el medio de cultivo está seco, revela la existencia de un micelio en raqueta y de apresorios. En la profundidad del medio de cultivo existe también micelio en raqueta.

En el *agar-papa glucosado*, el micelio esta constituido por filamentos delgados de 1,2 a 1,5 micra, ondulosos, ramificados y tabicados. Existe micelio en raqueta y escasa cantidad de elementos vegetativos de propagación, clamidoartrosporos, cuyas dimensiones oscilan entre 3—10 micra o más de largo por 2,5 a 3 micra de diámetro.

En los cultivos en *agar-mosto* incubados a 37°, son tan numerosos los clamido-artrosporos que dan la impresión de que todo el micelio se hubiera resuelto en estos elementos de propagación. Se forman a expensas del filamento vegetativo al cual agotan de su contenido celular, quedando entre los clamido-artrosporos porciones mas a menos largas del filamento reducidas unicamente a la membrana, que se marchita en ciertas regiones. Los extremos de los clamido-artrosporos, cortados a pico, se redondean luego un poco, por lo cual adquieren el aspecto de pequeños toneletes. Estos elementos de propagación quedan libres por desintegración del filamento que los ha originado y allí donde éste se divide por dicotomía, se forman en ambas ramas hasta sus extremos libres (fig. 9).

En zanahoria, se observan clamido-artrosporos y algunos órganos nodulares.

Caracteres fisiológicos.

Temperatura óptima del desarrollo: 37°C. Se sembraron tres tubos de agar mosto inclinado depositando en el centro del medio una partícula de cultivo, aproximadamente del mismo tamaño en todos los tubos y se llevó uno a 37°, otro a 25° y el tercero se dejó a la temperatura ambiente (unos 15°). Al cabo de tres dias la colonia del primer tubo medía 1 y $^1/_2$ cm., la del segundo 0,7 cm. y en el tercer tubo no había desarrollo aparente.

Acción sobre los hidratos de carbono: Se estudió la facultad de acidificar y hacer fermentar los siguientes hidratos de carbono: glucosa, galactosa, manosa, levulosa, lactosa, maltosa, sacarosa, rafinosa, almidón, inulina y manita. Se emplearon para ello tubos de Durham conteniendo agua de levadura con 3% de los diferentes hidratos de carbono y dos indicadores del pH., el bromo-cresol-púrpura y el rojo-fenol en la proporcion de 1 cm^3 de cada una de sus soluciones acuosas saturadas para 1 litro de medio de cultivo. De los hidratos de carbono se hicieron soluciones acuosas concentradas que se esterilizaron aparte.

En todos los tubos hubo formación al cabo de 20 dias de incubación a 20—25° de una gruesa plícula en la superficie, pero no se produjo desprendimiento gaseoso ni modificación de la reacción en ninguno de ellos.

Facultad de utilizar los diferentes hidratos de carbono: Para el estudio de esta propiedad se preparó el siguiente medio de cultivo:

Agua destilada	1.000 cm³.
Peptona Witte	5 grs.
Cloruro de sodio	5 „„
Indicador de Andrade	10 cm³.

Este medio de cultivo fué repartido en fracciones de 20 cm³ en tubos grandes de unos 3 cm. de diámetro y se les agregó cuando aún estaban fundidos, 3 % de los diferentes hidratos de carbono (solución concentrada en agua destilada y esterilizados a 115°, 10 minutos) y se los inclinó en pico de clarinete.

Los hidratos de carbono fueron los mismos que los utilizados en la experiencia anterior y las lecturas se hicieron al cabo de 20 dias de incubación a 20—25°. En todos los tubos este hongo desarrolló formando una película membranosa, plana y húmeda aunque algo más seca en el centro y en los bordes. El desarrollo en la profundidad de los medios de cultivo era moderado, habiendo sido más abundante en los tubos con almidón y rafinosa.

En ningún tubo se pudo apreciar un cambio de la reacción del medio y en todos, salvo en el medio con rafinosa, las colonias tenían aproximadamente el mismo diámetro. En el tubo con rafinosa, el desarrollo en la superficie era la mitad mas pequeño que en los demás.

En ambas experiencias se dejaron tubos testigos sin sembrar mantenidos en las mismas condiciones, los cuales no sufrieron cambio alguno.

Acción sobre la esculina: no la desdobla.

Acción sobre el almidón: no la hidrolisa.

Acción sobre la celulosa: no la ataca. Se sembraron tubos con caldo y con *medio de Raulin* conteniendo un fragmento de papilla de papel de filtro preparada según la tecnica de Phillips y las lecturas se hicieron al cabo de 20 dias de incubación a 20—25°.

Facultad de utilizar diversas fuentes nitrogenades: Para el estudio de esta propriedad se preparó el siguiente medio de cultivo (Stelling-Dekker):

Glucosa	2 %
Fuente nitrogenada	0,1 %
KH_2PO_4	0,1 %
Sulfato de magnesio	0,05 %
Agar	2 %

el cual fue repartido en tubos grandes en fracciones de 20 cm³ e inclinados en pico de clarinete. En el centro de cada uno de ellos se sembró una particula de material de cultivo, aproximadamente siempre del mismo tamaño. El resultado de la lectura se hizo en las mismas condiciones que en las experiencias anteriores. El desarrollo en la superficie del medio con nitrato de potasio fue nulo; era en cambio en la profundidad abundante como de 4 cms. de diámetro y zonado. En el mismo medio de cultivo pero sin KNO^3 el desarollo era algo menor.

En el medio con sulfato de amonio como fuente nitrogenada, el desarrollo tenía los mismos caracteres que en el caso anterior, salvo un crecimiento apenas perceptible en la superficie.

En el medio con asparagina: colonia de 1 cm de diámetro, apenas saliente, lampiña y blanca. En la profundidad, desarrollo abundante de 1 cm. de diámetro, blanco.

Propiedades proteolíticas. En el mosto de cerveza gelatinado sembrado por picadura: formación al cabo de 20 dias a 20° de un pelicula gruesa, lampiña en el centro, lanosa y blanca en los bordes. El examen microscópico, no reveló nada de particular. La licuación de la gelatina comenzó al 2° dia y a los 20 se extendía hasta 1 cm por debajo del desarrollo.

Aclaró y licuó el suero de caballo coagulado. El desarrollo tenía al cabo de 20 dias a 20° unos 3 y $^1/_2$ cms. de diámetro, era elevado en el centro y plano en la periferia, lampiño, blanco sucio y de reverso incoloro.

Acción sobre la leche: la peptoniza y aclara en pocos dias.

Sobre la leche tornasolada: la misma acción, sin cambiar el color. Como en los demás medios líquidos se formó en la superficie de la leche una película gruesa.

Reducción de nitratos en nitritos: negativa.

Producción de indol: negativa.

Producción de acetil-metil-carbinol: negativa (reacción de Voges-Proskauer).

Producción de SH_2: negativa. Se preparó el siguiente medio de cultivo: agar-caldo (con extracto de carne) 5 cm³, solución de glucosa al 2 %—0,5 cm³, y 0,25 cm³ de una solución de acetato básico de plomo al 2 %. Al cabo de 20 días en la superficie del medio inclinado el desarrollo era aterciopelado, funiculoso, blanco y zonado, apenas elevado en el centro y con algunos surcos radialmente dispuestos.

Accion sobre la sangre de conejo: Se utilizó sangre defibrinada de conejo adicionada en la proporción del 5 % al agar-caldo. La colonia presentaba al cabo de 20 dias el siguiente aspecto: zona central de un centímetro de diámetro, lanosa y blanca, luego seguía una zona de mechas (funiculos) de unos 3 mm. de diámetro y finalmente una zona periférica plana y lampiña de 1 cm. de diámetro, mas o menos. Hemolisa los globulos rojos de conejo.

Producción de bacteriolisinas. Para el estudio de esta propiedad se prepararon suspensiones densas de estafilococo, *Micrococcus prodigiosus* y *Bacillus pyocyaneus*, que se esterilizaron por calentamiento durante 1 hora en bañomaria a 65° y se adicionaron luego a sus correspondientes tubos de agar caldo fundido en cantidad suficiente para comunicarles una apreciable opacidad.

Al cabo de 20 dias de incubación a 20—25° se obtuvo el siguiente resultado:

En agar-caldo con suspension de estafilococo: no se aclara. Desarrollo blanco, lanoso, zonado de unos 3 mm. de diámetro. Al examen microscópico se observan clamido-artrosporos y funículos.

En agar-caldo con suspensión de *Micr. prodigiosus:* Se aclara. Desarrollo lanoso abundante. Al examen microscópico se observan numerosos clamido-artrosporos y micelio en raqueta.

En agar-caldo con suspensión de *Bac. pyocyaneus:* No se aclara. Desarrollo lanoso en el centro y plano en la periferia. Al examen microscópico se observan clamido-artrosporos y micelio en raqueta.

Acción sobre las grasas. Para el estudio de la actividad lipolitica de este hongo se emplearon: grasa de ternera, aceite de olivas y manteca, adicionados en la proporción del 1 % par cada tubos de agar-caldo. En todos hubo buen desarrollo, pero en ninguno se observó la formación de cristales de ácidos grasos, ni aclaramiento del medio que hubiera indicado un ataque de las substancias grasas empleadas.

Acción patógena experimental.

Un conejo inoculado por via subcutánea con material de cultivo triturado en un mortero con solución fisiológica, sobrevivió sin presentar nada de particular.

Un conejo inoculado con el mismo material por via intraperitoneal, murió a los 15 dias con un marcado adelgazamiento y sin presentar en la autopsia otra alteración que el peritoneo parietal poco brillante. Finalmente otro conejo inoculado por via venosa con el mismo material previamente filtrado por algodón, murió a los tres dias presentando en la autopsia derrame en las serosas (peritoneo, pericardio, pleuras).

Las intradermo-reacciones practicadas con antígeno de este hongo en los dos primeros animales después de 8 dias de la inoculación, fueron negativas.

Simultaneamente a las experiencias anteriores se inocularon con el mismo material dos cavias, una por via peritoneal que murió a los 9 dias sin observarse en la autopsia nada de particular y otra por via subcutanea. Esta cavia presentó a los 6 días un nódulo en el punto de inoculación que se transformó luego en un absceso, muriendo 12 días después de la inoculación. En la autopsia se observó que el absceso subcutáneo del tamaño de un garbanzo, contenia un pus caseoso donde pululaba el hongo inoculado en forma de cortos filamentos y de artrosporos. En el resto del organismo no se observó nada de particular.

Las intradermo-reacciones practicadas a los 8 dias en este ultimo animal, presentaban a los 4 dias unas zonas necroticas de unos 2—3 cm de diámetro.

Consideraciones sobre este caso.

Clinicamente se trata de una micosis generalizada mortal al cabo de 7 meses, de comienzo probablemente pulmonar con metastasis en el tejido celular sub-cutaneo de regiones apartadas del organismo, en un sujeto de edad media, del sexo masculino y dedicado a tareas agrícola-ganaderas en Córdoba.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fgi. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 1. Aspecto macro-morfologico del cultivo en agar caldo inclinado. Colonia algodonosa.

Fig. 2. Colonia vellosa, plana y con circulos concéntricos desarrollada en la superficie del agar glicerinado inclinado.

Fig. 3. Colonias vellosas y con círculos concéntricos en la superficie del agar caldo-glucosado.

Fig. 4. Colonia algodonosa en la superficie del agar-sangre.

Fig. 5. Colonia lampiña, húmeda y brillante, con circulos concentricos y mechas, en la superficie del agar-miel.

Fig. 6. Aspecto del cultivo del *Trich. proteolyticum* en el agar-mosto.

Fig. 7. Película gruesa y lampiña formada en la superficie del mosto liquido, que hal caido por agitación del tubo.

Los caracteres clínicos han sido los típicos de una micosis; comienzo en la base pulmonar, ataque del mediastino e hilios pulmonares y abscesos frios consecutivos en diversas regiones del organismo.

Micologicamente nuestro hongo se parece a los del género *Geotrichum* de los cuales se han descrito varias especies productoras de micosis profundas en el hombre. Segun Langeron y Guerra la única diferencia micromorfológica que existiría entre los representantes de los géneros *Geotrichum* y *Trichosporon* sería la existencia en estos últimos de apresorios. Nuestro hongo puede ser pues clasificado en el genero *Trichosporon* que comprende hongos que comunmente producen afecciones nodulares de los pelos del cuero cabelludo, barba y bigote; aun cuando ya se han descrito especies (*Trich. rugosum, para-rugosum* y *Uffreduzzii*) productoras de bronquitis o afecciones tumorales.

No henos encontrado en la bibliografía que ha llegado a nuestras manos, ninguna descripción de especies parásitas de *Geotrichum*, *Trichosporon* o *Zymonema* cuyos caracteres micológicos correspondieran a los de nuestro caso, por lo cual decidimos crear esta nueva especie designándola con el nombre de *Trichosporon proteolyticum* para recordar su acción bioquimica mas llamativa.

El *Zymonema pulmonalis membranogenes* de Martins se parece a nuestro hongo, pero su descripción micológica es insuficiente y además el autor observó en los cultivos la formación de brotes y dentículas laterales en el micelio, elementos ausentes en el *Trichosporon proteolyticum.*

Resumen de los caracteres micológicos del **Trichosporon proteolyticum** Negroni y de Villafañe Lastra, 1938. n. sp.: En el medio de Czapek y en el agar-papa, no desarrolla en superficie sino en profundidad, siendo este micelio sumergido hialino y con zonas concéntricas. En el agar mosto y en el agar-miel, las colonias son circulares, planas lampiñas, grisaceas, ligeramente brillantes, zonadas y con finos surcos radiados y funículos en la superficie. Reverso incoloro y liso.

En el agar caldo simple, glucosado o glicerinado, asi como en zanahoria, colonias vellosas o lanosas, de color blanco puro o sucio y con circulos concéntricos. Reverso amarillento o parduzco.

En el mosto de cerveza líquido: formación de una película gruesa y lampiña.

Temperatura óptima de crecimiento: 37°C.

No hace fermentar: glucosa, levulosa, galactosa, manosa, sacarosa, maltosa, lactosa, rafinosa, almidón, inulina y manita. Todos estos hidratos de carbono son igualmente utilizados como fuente carbonada, salvo la rafinosa, pues la colonia era la mitad mas pequeña en el medio que contenía este azucar.

No ataca la esculina.

Desarrolla mejor en los medios con sulfato de amonio o nitrato de potasio que con asparagina.

Licúa rapidamente el mosto de cerveza gelatinado, el suero de caballo coagulado y proteolisa la leche. No ataca la celulosa, no hidrolisa el almidón, no reduce nitratos en nitritos, no produce indol, hidrógeno sulfurado ni acetil-metil-carbinol.

Hemolisa la sangre de conejo y tiene acción bacteriolítica débil sobre una suspensión de *Micr. prodigiosus.* No ataca las grasas.

Acción patogena experimental débil (absceso subcutaneo en el punto de inoculación).

Habitat: micosis generalizada en el hombre y muerte al cabo de 7 meses de evolución, en Argentina.

Trichosporon proteolyticum Negroni y de Villafañe Lastra, 1938 n.sp.

Arthrosporatus, qui in media solida format colonias glabras, humidas, nicantes et cum funiculis in superficie, aut contra, villosas vel lanosas commune centrum habentes; mycelium hyalinum, septatum et ramificatum 1,5 ad 3 μ latitudinis ostendit cum appressoriis, nodosis organis, mycelio cum clavibus et chlamydoarthrosporis, 3 ad 10 aut magis μ longitudinis et 2,5 ad 3 μ latitudinis. Temperatura optima incrementi, 37°C; actionem in hidrocarbonatis non habet, sed contra proteoliticam actionem nimis nitidam habet.

Habitat: ad corpus homini totum extensa, prope Córdoba (Argentina).

Agradecemos vivamente al Dr. Guillermo Basombrio por su gentileza en escribirnos el diagnóstico en latín de esta nueva especie.

Summary

We have studed a new fungus isolated by Dr. Rennella in pure culture and several times, from a patient suffering of a generalised mycosis. The subcutaneous lesions consisting of cold abscess disseminated in many parts of the body, appeared after two months of pulmonary disturbances. The patient died after three months illness.

The repeated investigations for Koch's bacillus were negative.

The fungous existed in lesions as yeast-like elements enveloped by gelatinous sheaths.

Macro-morphological characteristics:

On solid synthetical media (Czapek) and on potato-agar it does not grow on the surface but the immerged mycelium is abundant.

On plain, dextrose or glycerinated-agar and on carrot: velvety or cottony development of a dirty or pure white color and with concentric areas (zonations). Reverse: smooth, yellowish or brownish.

On wort or honey-agar: circular colonies, broadly spreading, plain, glabrous, slightly brilliant, zonate and with faint radial wrinkles.

In liquid wort it forms a thick and glabrous pellicle.

Micro-morphological characteristics.

Arthrospored hyphomycete with hyalin, branched and septated mycelium of 1,5 to 3 micra of diametre.

In culture media, it forms nodular organs, appressoria, funicula and racket mycelium measuring 9 micra in its largest parts. The chlamydo-arthrospores are of 3 to 10 micra or even more long by 2,5 to 3 wide.

Physiological activities.

Optimum temperature 37°C.

No action on dextrose, galactose, levulose, mannose, lactose, maltose, sucrose, raffinose, mannitol, aesculine, inuline, starch and cellulose.

It grows better on synthetical media contaning NO_3K or $SO_4(NH_4)_2$ as a source of nitrogen than on those with asparagine.

Strong proteolytic action on wort-gelatine, coagulated serum and on milk.

Reduction of nitrates to nitrites: negative.

Indol: not produced. SH_2 and acetil-methyl-carbinol: not formed.

Haemolytic action on rabbit blood and weak bacteriolytic power on a heated suspension of *Micrococcus prodigiosus.*

Animal or vegetable fats: not attacked.

Pathogenic power on laboratory animals: weak, abscess by subcutaneous inoculation.

We propose the name of **Trichosporon proteolyticum** for this new parasite, in account of its great proteolytic activity.

Résumé

Nous avons étudié un champignon appartenant au genre *Trichosporon* Behrend, 1890, isolé par le Dr. Rennella à l'état de pureté et à plusieurs reprises des lésions d'un

malade souffrant depuis deux mois de mycose généralisée. La lésion pulmonaire initiale simulait la tuberculose et les lésions souscutanées multiples apparues deux mois après étaient du type des abcès froids. Le malade mourut au bout de trois mois d'évolution. Les recherches du bacille de Koch ont été constamment négatives.

Ce champignon se présentait dans les lésions sous la forme levure enveloppée d'une couche gélatineuse.

Caractères macro-morphologiques.

Pas de développement dans la surface des milieux de culture solides synthétiques et dans les milieux au pomme de terre, simple ou glycosés. Dans la profondité le mycélium est au contraire très abondant.

Sur l'agar simple, glycosé ou glycériné et sur la carotte: développement laineux ou duveteux, blanchâtre ou blanc pur avec des zones concentriques plus ou moins marquées (zonées). Revers lisse, jaunâtre ou brunâtre.

Sur l'agar-moût ou l'agar-miel: colonies circulaires, glabres, planes, légèrement brillantes, zonées et avec des sillons radiés peu marqués et des funicules dans la surface. Revers lisse, incolore.

Dans le moût de bière liquide il forme une pellicule épaisse et glabre.

Caractères micro-morphologiques.

Hyphomycete arthrosporé à mycélium hyalin, ramifié et cloisonné de 1,5 a 3 micra de diamètre. Il présente dans les cultures des organes nodulaires, des appressoirs, des funicules (mèches) et un mycélium en raquette mésurant 9 micra de diamètre dans les parties gonflées.

Les chlamydo-arthrospores mésurant 3 à 10 micra ou plus de longueur par 2,5 a 3 micra de largeur.

Caractères physiologiques.

Température optima du développement: 37°C.

Il n'a aucune action sur le glucose, galactose, levulose, mannose, lactose, maltose, saccharose, raffinose, amidon, inuline, mannite et ésculine.

Il se développe mieux dans les milieux de cultures synthétique à base de NO_3K ou de $SO_4(NH_4)_2$ que dans ces contenant de l'asparagine comme source de nitrogène.

Proprietés protéolytiques très marquées sur le moût de bière gélatiné, sur le sérum coagulé et sur le lait.

Il n'attaque pas la cellulose. Il ne reduit pas les nitrates en nitrites, il ne produit pas d'hydrogène sulphuré, ni d'acétil-methyl-carbinol. Il attaque pas les graisses. Hemolyse le sang du lapin et il a une faible action bactériolytique sur le *Micrococcus prodigiosus.*

Pouvoir pathogène expérimental: faible. Abcès par voie souscutanée.

Nous proposons designer ce nouveau parasite sous le nom de **Trichosporon proteoliticum** Negroni et de Villafane Lastra, 1938 pour rappeler ses propriétés protéolytiques très marquées.

Bibliografia

Martins, C. R. Soc. Biologie, **98**, 1162—1164, (1928). — Vuillemin, P., Les champignons parasites et les mycoses de l'homme. Paris, 1931. — Almeida, F. de, As blastomycoses no Brasil. Ann. Fac. Med. Sao Paulo, **9**, 69—163, (1933). — Dodge, C. W., Medical Mycology. St. Louis, 1935. — Brumpt, E. Précis de parasitologie. Paris, 1936. — Puntoni, V., Mycopathologia, **1**, (3), 169—181, (1938).

Nota: cuando este artículo ya había sido comunicado y enviado para su publicación, recibimos el último número de „Mycopathología" donde aparece el trabajo de Puntoni; por eso no nos ha sido posible comentarlo y comparar las especies por él descritas, con la nuestra.

Über Dermatitis verrucosa cephalosporica

von

Dr. T. Morikawa.

(*Aus der Dermatologischen Abteilung der Dermato-Urologischen Klinik der Kaiserlichen Universität zu Tokio*)

Mit Tafeln IX–XI.

(20.VIII.1938.)

Unter den Dermatomykosen, die von den verschiedensten Pilzarten verursacht werden, werden diejenigen, hervorgerufen durch *Cephalosporium*, heute nur noch sehr selten beobachtet, und man findet nur spärliche Fälle, bei denen die Pathogenität des Erregers einwandfrei nachgewiesen worden ist. Bei einem von uns neuerdings beobachteten Fall von Cephalosporiose, der klinisch das Bild einer Tuberculosis verrucosa cutis oder einer Dermatitis verrucosa darstellte, beherbergte die verdickte Hornschicht der Krankheitsherde beträchtliche Mengen von Fäden eines Pilzes, der sich leicht auf zuckerhaltigen Nährböden züchten liess. Seine Pathogenität wurde durch Inokulation der Kultur auf die Haut des Menschen und an Tieren sicher festgestellt. Bei der Seltenheit der Cephalosporiose und dem Mangel vom restlosen Beweis der Pathogenität der bisher isolierten Pilze ist jeder Beitrag zur näheren Kenntnis von der Krankheit und deren Erregern erwünscht; dies veranlasst uns zur Mitteilung über die folgende Krankheitsgeschichte und das Ergebnis unserer Untersuchung.

Krankheitsgeschichte. [1])

G. Kimura, eine 55-jährige Bauersfrau, hatte bisher niemals Feldarbeit getan. Vor 7 Jahren bemerkte die Patientin zuerst einen pernioähnlichen Ausschlag in der 5. Metatarsophalangealgelenkgegend des linken Fusses. Dieser wollte nach Ablauf des Winters nicht heilen, sondern verbreiterte sich medianwärts auf den Rücken der Zehen. Nach 4 Jahren bildete sich ein etwa hühnereigrosser Herd auf der 4. und 5. Zehe und der angrenzenden Dorsalfläche des Fusses. Vor einem Jahr trat ein neuer Ausschlag auf dem Rücken der 2. Zehe auf und vergrösserte sich in gleicher Weise weiter medianwärts bis zur Grosszehe des Fusses. Seit einigen Monaten konfluierten die beiden Herde auf der Plantae pedis. Die Krankheitsherde sollen stets an Konsistenz zugenommen haben; aber weder Vereiterung noch Erweichung wurden je beobachtet.

Status praesens. Die Veränderung beschränkt sich ausschliesslich auf den linken Fuss, und zwar auf seine vordere Partie. Auf dem Rücken der 2., 5 und besonders der 1. Zehe, sowie auf dem angrenzenden Fussrücken ist die Haut flach verrukös verdickt und schmutzig grauweiss bis bräunlichgrau pigmentiert. Diese Herde, die ziemlich scharf an gesunde Umgebung grenzen, bestehen aus miliaren bis erbsengrossen, dicht nebeneinander stehenden Knötchen von polygonaler oder unregelmässiger Gestalt, und fühlen sich sehr hart an, so dass man sie weder in Falten abheben, noch von der Unterlage verschieben kann.

Auch auf der Plantarfläche desselben Fusses finden sich ähnliche Herde. Die plantare Ansatzfalte von der 2. bis 5. Zehe und der laterale Fussspann sind Sitz der Herde, die hier auch eine verrukös-hyperkeratotische Beschaffenheit haben und mit feinen Einrissen versehen sind. Die 3. Zehenspalte zeigt eine weissliche erodierte Ober-

[1]) Die Diagnosenstellung dieses Falles, sowie des bei ihm isolierten Pilzes ist von Herren Prof. Dr. M. Ota und von Priv.-Doz. Dr. Y. Takahashi ausgeführt. Auch bei dieser Gelegenheit spreche ich beiden Herren meinen besten Dank aus für die Überlassung des Materials und die freundlichen Unterstützung dieser Arbeit.

fläche wie man bei der *Erosio interdigitalis blastomycetica* oder der *Trichophytia interdigitalis* zu beobachten pflegt. Der Knochen unter dem Krankheitsherde weist weder palpatorisch noch röntgenologisch eine pathologische Veränderung auf. Die regionären Lymphdrüsen, nämlich die linken Popliteal-, Femoral-, und Inguinaldrüsen sind nicht angeschwollen. Die interne Untersuchung ergibt auch keine Besonderheiten.

WaR., Pirquetsche und Mantouxsche Reaktion negativ. Urinbefund: o. B. Blutbild: Erythrocyten 430.0000, Hb. 80%, Leukocyten 6500. Das Differentialbild o. B.

In der aus dem verrukösen Herde abgeschabten Hornmasse findet man mikroskopisch zahlreiche Pilzelemente, die sich meist als kuglige oder ovale, mit einer doppeltkonturierten Membran und einem hyalinen Protoplasma versehene Gebilde, deren Durchmesser 1—3 μ beträgt, darstellen.

Histologie

Die Veränderung betrifft sowohl die Epidermis in alle ihren Schichten, als auch den oberen Teil der Kutis. Das Stratum corneum ist überall ausserordentlich stark verdickt und zeigt hie und da parakeratotische Inseln. Das Stratum spinosum ist mächtig hypertrophiert und die dicken Epidermiszapfen dringen, unregelmässig verzweigt, tief in die Kutis hinein. Die Kutis ist der Sitz von diffusen Zellinfiltrationen, welche hauptsächlich aus Lymphozyten und einer spärlichen Menge sonstiger Zellarten bestehen. Nur vereinzelt beobachtet man Riesenzellen. Der gesamte Aufbau der histologischen Veränderung ist keineswegs demjenigen bei Hauttuberkulose analog.

Die elastischen Fasern sind im Bezirk der Infiltration gelichtet, die Gefässe mit erweitertem Lumen und gequollenen Endothelien versehen.

Die Pilzelemente sind nur in der Hornschicht in beträchtlicher Menge vorhanden. Sie lassen sich nicht mit Hämatoxylin-Eosin, dagegen nach Gram und mit polychromem Methylenblau färben. Sie stellten sich hier als kuglige oder länglich-ovale, mit doppeltkonturierter Membran versehene Zellen (Chlamidosporen) mit einem Längsdurchmesser von 2—3 μ oder als kurze Myzelfragmente dar. Lange Myzelfäden sind nicht zu finden.

Kultur

Mit jedlichem Material gingen die Kulturen auf gewöhnlichen zuckerhaltigen Nährböden bei sommerlicher Zimmertemperatur an. Die Beschaffenheit der Kulturen war auf allen Nährböden fast gleichartig.

1. Sabouraudsches Glukoseagar. Die Kultur wächst sehr schnell und stellt sich, schon 2—3 Tage nach dem Aussäen, als ein langflaumiges Knöpfchen von grauweisser Farbe dar, das nach 7 Tagen einen Durchmesser von etwa 3 cm und nach 14 Tagen von 7 cm erreicht. Die ganze Oberfläche der Kultur ist gleichmässig mit weisslichgrauem Flaum bedeckt. Öfters sieht man eine seichte unregelmässige Furche um das Zentrum herum laufen, die, von der roten Farbe der entsprechenden Zone der Unterseite des Rasens beleuchtet, blassrot aussieht. Die Rückseite der Kultur ist, ausgenommen jenen rötlichen Ring, fast farblos.

2. Pollaccischer Nährboden. Der Pilz wächst sehr gut auch auf diesem Nährboden und bildet eine leicht bräunlichgelb gefärbte runde Scheibe, auf deren flaumiger Oberfläche einige seichte Radiärfurchen sichtbar sind.

3. Mohrrübe. Die Kultur ist mit ziemlich langem und weisslichem Flaum bedeckt, der sich hie und da zu stacheligen Bündeln (Koremien) vereinigt.

4. Agar-agar. Der Pilz wächst schlecht auf diesem Nährboden und bildet eine kleine Scheibe mit radiären Falten, deren Oberfläche auch mit grauweissem Flaum bedeckt ist.

5. Milch. Der Pilz bildet eine Kahmhaut auf der Oberfläche der Milch, ruft aber keine Gerinnung hervor. Die mit der Glasröhrenwand in Berührung kommende Randpartie der Kahmhaut hat einen blassroten Stich.

6. Glucose-Bouillon. Die Kultur zeigt eine farblose, unregelmässig gestaltete Bodensatzvegetation. Das Medium bleibt stets klar.

Die optimale Temperatur für das Wachstum des Pilzes ist ungefähr 25°C.—37°C. Biochemische Wirkung: Maltose und Mannose werden mittelmässig vergoren, die sonstigen Zuckerarten (Glucose, Galactose, Laevulose, Arabinose, Xylose, Rhamnose, Saccharose, Lactose, Raffinose, Dextrin, Inulin und Mannit) gar nicht.

Mykologische Eigenschaft

In den ausgebildeten Kulturen nimmt man folgende Elemente wahr:

1) Myzelien sind reichlich, kriechend, verzweigt, in Abständen von 5—30 μ septiert, gelegentlich mit benachbarten Hyphen anastomosierend, hyalin, 1,5—4,5 μ breit. In den älteren Hyphen erscheinen mässige lichtbrechende Körner. Myzelanschwellungen in Raquettenform werden häufig beobachtet.

2) Die Konidien entwicklen sich am Ende des Konidienträgers, sind eiförmig oder elliptisch, glatt, einzellig, zuweilen aber zweizellig, 7,5—13 μ lang, 3—4 μ dick. Die nach und nach an der Spitze des Konidienträgers gebildeten Sporen fallen nicht verstreut ab, sondern kleben zusammen durch eine Kittsubstanz, so dass ein Ball, der mehrere bis über 10 Sporen umhüllt, wie ein Köpfchen zum Vorschein kommt. Solche Köpfchen sind hyalin und haben einen Durchmesser von 10—25 μ.

3) Die Konidienträger entstehen als kurze Seitenäste. Übrigens ist die Schleimhülle nicht sehr dick, und es gibt häufig Sporen, die ohne Hülle zusammenhängen. Die Konidienträger stehen beinahe rechtwinklig auf den Myzelien, sind meist 10—50 μ lang, nicht verzweigt und septiert.

4) Die Chlamidosporen entstehen entweder terminal oder interkalar an den Myzelien und erreichen einen Durchmesser von 3—8 μ. Sie sind doppeltkonturiert, hyalin oder oft granuliert. Wenn sie terminal an der Spitze sitzen, so erwecken sie den Eindruck, als seien sie grosse Konidien wie bei *Acremoniella Perinii*.

Versuche von Verimpfung auf Menschen

1. *Perkutane Inokulation.* Nach leichtem Abschaben der Oberhaut durch Sandpapier wurde bei 2 Personen etwas von der Pilzkultur am Oberarm eingerieben. Nach 3 Tagen entstand eine Rötung, am nächsten Tage eine Anzahl von Seropapeln. Im Abschabematerial dieser Stelle wurden reichliche Myzelfäden nachgewiesen. Die Papeln verschwanden nach 2 Tagen, einige dünnlamellöse Schuppenauflagerungen hinterlassend. Die Retrokulturen aus Schuppenresten gelangen immer. Merkwürdig ist, dass diese Retrokultur auf Sabouraudschem Glukoseagar stets einen etwas schwärzlichen Ton in der 1. Generation aufwies, was bei ursprünglichen Kulturen nicht der Fall war.

2. *Intrakutane Inokulation.* Eine Öse voll gut entwickelter Kultur wurde mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung fein emulgiert und davon 0,1 ccm an linken Oberarm bei 2 gesunden Personen intrakutan injiziert. Nach 2 Tagen trat dort ein ca. 1,5 cm messendes induriertes Erythem auf. Das Erythem wurde dann nach und nach blässer, und eine Induration mit einem Durchmesser von 0,5 cm, deren Oberfläche mit Blutborken bedeckt war, blieb bis zum 7. Tag bestehen, verschwand jedoch bis zum 15. spurlos.

Durch diese Versuche konnten wir feststellen, dass der Pilz nicht zufällig auf den Krankheitsherden gefunden wurde, sondern dass er Urheber der Erkrankung ist. Die spontane Heilung der künstlich erzeugten Krankheitsherde spricht keineswegs gegen diese Annahme, da wir wissen, dass dasselbe bei der Impfung des Tinea imbricata-Erregers auf Menschenhaut vor sich geht.

Impfversuche auf Tiere

Im Gegensatz zu den Impfversuchen auf Menschenhaut weist dieser Pilz eine weit stärkere Pathogenität für Laboratoriumstiere (Kaninchen, weisse Ratte und Maus) auf, ausgenommen das Meerschweinchen.

Die auf Sabouraudschem Glukoseagar üppig entwickelte, ungefähr 2 Monate alte Kultur wird in 30 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Diese

Aufschwemmung wird Mäusen (je 0,1 ccm 10 Mäusen subcutan, 10 anderen Mäusen intraperitoneal), weissen Ratten (je 0,1 ccm 10 Ratten subcutan, je 0,5 ccm 10 anderen Ratten intraperitoneal), Meerschweinchen (je 1,0 ccm 5 Meerschweinchen intraperitonal) und Kaninchen (je 2,0 ccm 3 Kaninchen intravenös) injiziert.

Wird der Pilz subkutan eingeimpft, bei welchem Tier es auch sei, so bildet sich am 7.—8. Tage ein Abszess an der Impfstelle, aus welchem eine breiartige Masse entleert wird. Das so entstandene Geschwür wird bald mit Blutborke bedeckt, und die Heilung tritt ungefähr am 20. Tage nach der Impfung auf.

Bei der intraperitonealen Inokulation entstehen zahlreiche Granulome oder geschlossene Abszesse an verschiedenen Stellen der Bauchhöhle. Am Beginn der Infektion sind Peritoneum und die seröse Häute der Bauchorgane Sitz der Veränderung, später wird auch das Parenchym der Bauchorgane befallen. Die Granulome stellen sich gewöhnlich als stecknadelkopf-, bis hirsekorngrosse Knötchen dar, können zuweilen die Grösse einer Erbse erreichen, wie es bei den Kaninchen der Fall ist. Der Netz wird meist am stärksten befallen und ganze Pakete von Knötchen bilden sich daran. Leber, Magen, Darm, Milz, Pancreas, Niere, Diaphragma und Nebenhoden sind weiterhin Lieblingssitz der Erkrankung. Bei intravenöser Impfung findet man eine Veränderung am häufigsten in der Lunge, am Hoden und Nebenhoden.

Der mikroskopische Befund der Veränderung ist bei allen Versuchstieren fast gleich. Die hauptsächliche Veränderung ist das Granulom, in welchem ungefähr 3 Zonen zu unterscheiden sind. Im Zentrum liegt ein Mikroabszess oder eine amorph erscheinende Masse von verschiedener Grösse, und in der Mitte dieser Zone sind die Pilzelemente zu finden, welche sich nach Gram-Weigert tief violett färben und als rundliche oder spindelförmige Sporen (mit einem Durchmesser von 1,5—3 μ) oder als kurze Fäden nachweisen lassen. Am Rande dieser Zone finden sich zahlreiche polynukleäre Leukozyten. Die oft nur schmale Mittelzone besteht aus einem Gewebe mit Epitheloidzellen und Riesenzellen. Diese wird von einem ringförmig verlaufenden Bindegewebe, welches Fibroblasten und Lymphozyten enthält, umgeben und stellt die dritte, äussere Zone dar.

Diskussion

Klinisches Aussehen. Aus dem Studium der Literatur ersieht man, dass die klinischen Erscheinungen der Cephalosporiose mannigfaltig sind. Während leichte Formen fast beschwerdelos sind, führen schwere Formen den Kranken bis zum Tode. Wir wollen darin 3 klinische Formen unterscheiden.

1) *Die oberflächliche Form*: Das klinische Bild ist ungefähr wie bei den oberflächlichen Trichophytien, oder bei Ekzemen und Dermatitiden. Diese Form betrifft die Fälle von Benedek (ekzemartige Hautveränderung mit Intertrigo), von Hartmann (kombiniert mit einer maculovesiculösen Trichophytie) und von Stühmer-Schmidt (neben Trichophytie des behaarten Kopfes seborrhoische, intertriginöse Dermatitis, *Folliculitis barbae, Keratosis palmo-plantalis* usw.). Ferner wurde eine impetiginöse Veränderung (Kerl und Schmidt), sowie eine *Onychomycosis* (Negroni) beobachtet. Nur bleibt es leider noch unentschieden, ob es sich bei all diesen Fällen um echte Cephalosporiose handelte.

Hartmann züchtete neben dem *Trichophyton gypseum*, das *Cephalosporium Hartmannii* aus einem typischen Trichophytieherde. Benedek hat in seinem Falle zusammen mit einem *Cephalosporium* einen Soorpilz isoliert. Der Fall Negroni's ist zweifelhaft und Dodge äusserte sich darüber, dass das *Cephalosporium spinosum*, das Negroni aus der Nagelplatte gezüchtet hatte, mit Spindelsporen eines *Fusarium* oder eines *Endodermophyton* verwechselt werden könnte. Andere Fälle haben noch schwächere Beweiskraft, da in histologischen Präparaten der Erreger nicht gefunden wurde und die ätiologische Untersuchung im allgemeinen mangelhaft war.

2) *Die tiefgreifende Form*: Es handelt sich zuerst um eine knotenförmige Anschwellung der Haut, die bald zerfällt und sich zu einem gummösen Geschwür umwandelt. Die anfangs lokale Erkrankung kann sich später eine allgemeine werden. Sie erinnert an Tuberculose, Lepra, Syphillis oder andere Mykosen, besonders Sporotrichose, Blastomykose oder Aktinomykose. Der Infektionsmodus solcher Form ist noch nicht bekannt. Bei den bisher mitgeteilten Fällen wurde kleine Verletzung, wie z.B. Verletzung bei der Feldarbeit, Zahnextraktion u. a. beobachtet, von wo aus der Erreger eindringen dürfte. Der Fall von Grütz betraf eine aktinomykose-ähnliche Affektion seitlich am Hals, der Fall von Boucher eine im Gesicht, die Fälle von Gougerot-Burnier-Duché-Eliascheff und Franchi solche am Unterschenkel. Leão und Lobo berichten von einem dem *Mycetoma pedis* sehr ähnlichen Fall.

3) *Erkrankung von Organen ausser der Haut.* Die Schleimhäute werden auch zuweilen befallen. Die klinischen Erscheinungen sind dabei verschieden. Maffei und Focosi beobachteten 2 Fälle der Cephalosporiose im Auge (chronische Dakriozystitits und Hornhautgeschwür) und nannten den von ihnen gezüchteten Pilz *Cephalosporium serrae*. Eine *Tonsillitis* wurde von Miller-Morrow und Cabrini-Redaelli beobachtet.

Was unseren Fall betrifft, so ist sein klinisches Bild ziemlich charakteristisch und unterscheidet sich von dem der bisher mitgeteilten Fälle. Indes ist das Bild für andere Arten der Dermatomykosen ziemlich gemeinsam und es stellt hyperkeratotisch-verruköse Ausschläge dar, wie bei der *Tuberculosis verrucosa cutis* oder *„Dermatitis verrucosa"* mykotischen Ursprungs. Nur bleiben sie auf den oberen Teil der Kutis beschränkt, und es bilden sich, obzwar Mikroabszesse, keine ausgedehnte Vereiterungen, so dass im ganzen Verlauf weder Zerfall noch Geschwür bzw. Fistelbildung zum Vorschein kommen. Diese Form könnte als ein neuer Typus der Cephalosporiose angenommen werden, und wir wollen sie mit dem Namen *„Dermatitis verrucosa cephalosporica"* bezeichnen. Bei unserem Fall existierte auch eine interdigitale Erosion desselben Ursprungs, die schon von Benedek und Schmidt beobachtet wurde. Diese interdigitale Erosion lässt sich klinisch nicht von der von anderen Pilzgruppen verursachten unterscheiden, nämlich von der *Trichophytia interdigitalis, Erosio interdigitalis blastomycetica* Fabry, oder von der ähnlichen Erosion beim *„Keratoma plantare sulcatum"* Castellani.

Alter und Geschlecht. In der Literatur findet man 11 Kranke, deren Lebensalter angegeben ist. Es sind 9 unter ihnen d. h. (81%) Personen im 3—5 Dez., 2 (1,8%) im 2. Dez. und 1 (0,9%) im 1. Dez. Von den 12 Kranken, deren Geschlecht bekannt ist, werden 7 männliche und 5 weibliche Personen betroffen.

Pathogenese, Krankheitsverlauf und Behandlung. Die Cephalosporiose ist überhaupt eine sehr seltene Erkrankung, obwohl *Cephalosporium* zu den in der Umgebung des Menschen ziemlich häufig vorkommenden saprophytischen Pilzen gehört. Vielleicht wäre dafür, dass ein Saprophyt wie *Cephalosporium* Erreger einer menschlichen Erkrankung wird, eine besondere Veranlassung ausser dem Zufall nötig. In unserem Fall z.B. könnte die lange Zeit bestehende Pernio als ein *locus minoris resistentiae* das Anhaften des Pilzes begünstigt haben. Die Cephalosporiose ist im allgemeinen eine relativ leicht heilbare Krankheit. Aber es ist auch ein zum *exitus letalis* führenden Fall (Franchi) bekannt, bei dem eine Septikämie auftrat.

Wir behandelten unsere Kranke mit innerlicher Jodkaligabe, Röntgen- und Radiumbestrahlung sowie Bepinselung von Chrysarobintraumaticin und Jodtinktur. Nach diesen Massnahmen heilte die Krankheit in wenigen Monaten.

Pilzbefund. Im Gegensatz zu anderen mykotischen Erkrankungen scheint bei der Cephalosporiose der Nachweis des die Krankheit erregenden Pilzes in Krankheitsherden

Fig. 1. Klinisches Aussehen des erkrankten Fussrückens links.

Fig. 2. Plantarfläche desselben Fusses.

Fig. 1. Histologisches Bild des Krankheitsherdes: Hyperkeratose, gewucherte Epidermiszapfen mit diffuser Zellinfiltration in der Kutis. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin.

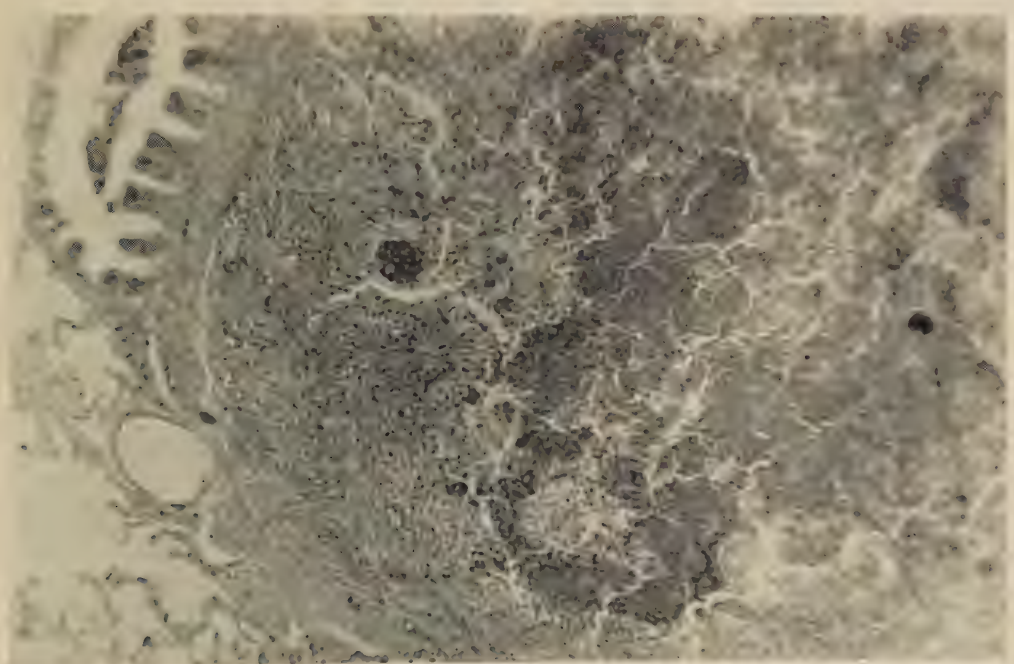


Fig. 2. Durch die Inokulation der Kultur erzeugte Granulome in der Lunge einer Ratte.

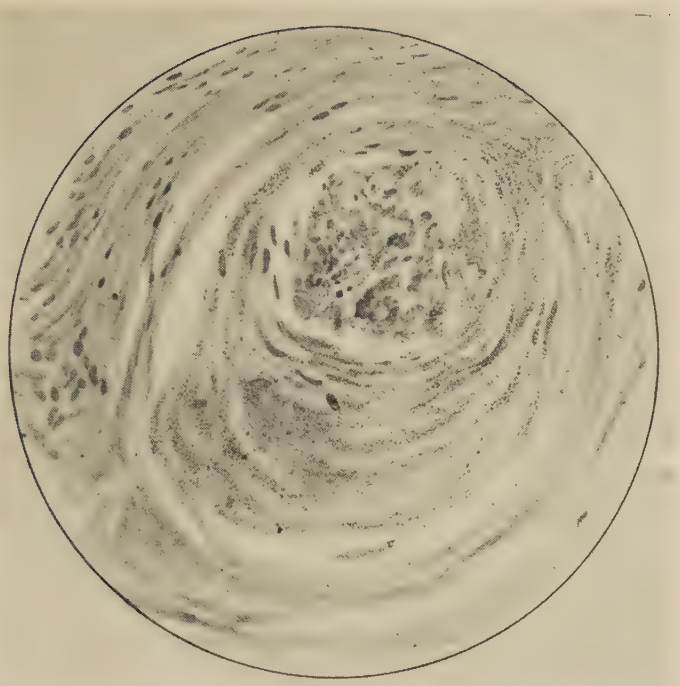


Fig. 1. Pilzelemente (zahlreiche schwarze Pünkte) in der Hornschicht. Färbung mit polychromem Methylenblau.

Fig. 2. 2 Wochen alte Kultur auf Sabouraud-schem Glukoseagar.

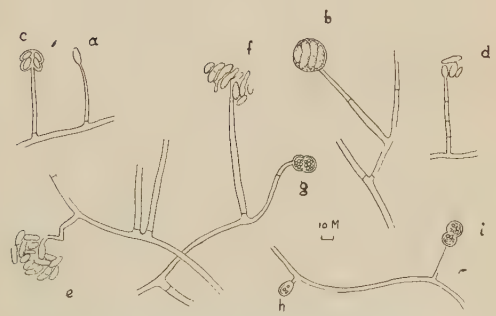


Fig. 3. Mikroskopische Formen: *a.* junge Konidie, am Ende des Konidienträgers entstehend; *b*, *c.* ausgebildetetes Konidienköpfchen; *d*, *e*, *f.* ohne Schleimhülle zusammenhängede Konidien; *g*, *h*, *i.* terminale Chlamidosporen.

etwas vernachlässigt worden zu sein. Nur in vereinzelten Fällen wurde der Pilz bald auf nativen, bald auf histologischen Präparaten gefunden. So fanden z.B. GOUGEROT und seine Mitarbeiter den Pilz im Geschwür. Bei unserem Fall liess sich die Pilzmasse in kolossaler Menge in der Epidermis nachweisen, so dass es kaum zweifelhaft erschien, den Pilz als Erreger der Krankheit wahrzunehmen. Die Kutis, besonders ihr oberer Teil, beherbergte ziemlich starke, entzündliche Infiltrate, aber weder Granulome noch Abszesse; der Pilz liess sich nicht in der Kutis nachweisen.

Artbestimmung. Nach den oben geschilderten morphologischen Eigenschaften besteht kein Zweifel, dass der von uns kultivierte Pilz zur Gattung *Cephalosporium* oder zur Gattung *Hyalopus* gehört. Diese zwei von CORDA geschaffenen Gattungen haben keine, sicher unterscheidbaren Merkmale; man könnte sie vielmehr in eine einzige Gattung verschmelzen, wie LINDAU sowie BUCHANAN auch darüber schon geäussert haben. Wir wollen im folgenden die in der Literatur als pathogen betrachteten Arten dieser zwei Gattungen aufzählen.

1. *Cephalosporium acremonium* Corda, 1839. Von FRANCHI, von CABRINI-REDAELLI, von GRÜTZ, von KERL sowie von HARTMANN in menschlichen Krankheitsherden wiedergefunden. Kolonie weisslich oder blassrot. Konidien länglich, 4 μ lang, 1 μ dick. Nach BRUMPT ist seine Pathogenität zweifelhaft. Aber FRANCHI bestätigte eine Abszessbildung nach der Impfung der Kultur an einem Meerschweinchen.

2. *C. Doukourei* Boucher, 1918. Aus gummösen Herden einer Frau isoliert. Pathogen für Meerschweinchen, Ratte und Taube. Kolonie im Zentrum verfärbt, in der Peripherie weisslich. Konidien länglich, 6 μ lang und 2 μ dick.

3. *C. Kiliense* (Grütz 1925) Hartmann, 1925. Von GRÜTZ aus einem gummösen Herd des Halses isoliert. Kolonie grau. Konidien oval, 3 μ lang, 1,5 μ dick.

4. *C. niveolanosum* Benedek, 1928. Aus einer Epidermomykose isoliert. Kolonie schneeweiss. Konidien oval, 5,2 μ lang, 2,6 μ dick.

5. *C. rubrobrunneum* Benedek, 1928. Von HARTMANN (1926) aus Trichophytieherden isoliert und als Saprophyt betrachtet, da der Pilz keine Pathogenität für Laboratoriumstiere aufwies. Später isolierte BALLAGI. Kolonie rötlich oder bräunlich. Konidien oval, 2,5 μ lang, 2 μ dick.

6. *C. serrae* Maffei, 1929. Aus einer Keratomycose des Auges isoliert. Die Inokulation der Kultur ruft nur an Impfstelle kleine Abszesse hervor. Kolonie bräunlich. Konidien oval.

7. *C. sp.* Negroni, 1931. Aus interdigitaler Mykose und Onychomykose isoliert. Kolonie weiss. Konidien länglich, 5—8 μ lang, 3—5 μ dick. Auch gibt es aus 1—4 Kammern bestehende, spindelformige Sporen von einer Grösse von 40 × 6 μ.

8. *C. pseudofermentum* Ciferri, 1932. CIFERRI isolierte diese Art. Kolonie anfangs weisslich, dann blassrot. Konidien oval, 3—5 μ lang, 1,5—2,5 μ dick.

9. *C. griseum* Gougerot, Burnier, Duché et Eliaschef, 1933. Aus einer ulzerösen Hautmykose isoliert. Kolonie grau oder bräunlich. Konidien länglich, 24,3 μ lang, 5,4 μ dick.

10. *C. spinosum* Negroni, 1933. Isoliert bei einer Person mit Epidermomykose und Onychomykose. Keine Pathogenität für Laboratoriumstiere. Kolonie weisslich. Konidien 4,9 μ lang, 3,6 μ dick.

11. *C. Stühmeri* Schmidt et van Beyma, 1933. Von STÜHMER bei einem Fall von Kopfgrind und einem Fall von ekzematöser Dermatose der Hand isoliert. Kolonie rötlichgelb. Konidien oval, 4,5—5 μ lang, 2,5 μ dick.

12. *C. recifei* Leão et Lobo, 1934. Bei einem Fall von *Mycetoma pedis* isoliert.

Kolonie anfangs weisslich oder gelblichweiss, später tiefgelb. Konidien elliptisch, 2 μ im Längsachse.

13. *C. nigrum* Kambayashi, 1937. Aus einem Fall von maculovesiculöser Dermatomykose isoliert. Kolonie stets intensiv schwarz. Konidien oval, 4,4—4,8 μ lang, 2,8—3,5 μ dick.

14. *Hyalopus anoma* Boucher, 1918. Von Boucher bei Fällen von gummösen Hautlesionen isoliert. Die Kultur ist stark pathogen für Meerschweinchen und Ratte. Kolonie anfangs weisslich, dann röttlichgrau. Konidien länglich und septiert, 54—75 μ lang, 5 μ dick.

15. *H. onychophilus* (Vuillemin, 1931) Aschieri, 1931. Von Tarantelli bei einer Onychomykose isoliert. Kolonie stachelig im Zentrum, hell- und dunkelbraun in der Peripherie. Konidien länglich, häufig gekrümmt, selten septiert. 4—18 μ in Längsdiameter.

Es ist immerhin sehr schwer oder sogar fast unmöglich, unsere Pilzart von den oben genannten zu unterscheiden, oder mit einer von ihnen zu identifizieren. Wenn die Gattungen *Hyalopus* und *Cephalosporium* sicher darin voneinander zu unterscheiden wären, dass bei der ersten die Konidien lange Zeit hindurch von einem dicken, und bei der letzten überhaupt nicht, oder nur temporär von einem dünnen Schleimball eingehüllt werden, so müsste wohl unsere Art zur *Cephalosporium* gehören.

Wenn wir jedoch wagen, von den oben genannten Arten eine zu wählen, die der unsrigen am nächsten steht, so ist es die des *Cephalosporium griseum*. Die Konidien unseres Pilzes betragen in ihrem Längsdurchmesser 7,5—13 μ und in ihrem Querdurchmesser 3—4 μ. Eine so lange Konidie wird nur bei *C. griseum* beobachtet, ausgenommen *Hyalopus anoma*, dessen Konidien aber mehrfach grösser als die unseres Pilzes sind. Nur die Farbe der Kolonie unseres Pilzes entspricht nicht völlig der des *C. griseum*. Obwohl die Kultur unseres Pilzes auf Glukoseagar Sabouraud's anfangs, wie *C. griseum*, grauweisslich ist, wird sie später schwärzlichgrau (wie bei *C. nigrum*) oder tiefrot (wie bei *C. rubrobrunneum* oder *C. Stühmeri*).

Andererseits weisen die Pilze von den Gattungen *Cephalosporium* und *Hyalopus*, auch wenn sie aus einem Krankheitsherde von Menschen isoliert werden, eine nur schwache Pathogenität auf, jeden Falls, wenn sie auf tierexperimentellem Wege geprüft werden. Nur *Cephalosporium Doukourei*, *Hyalopus anoma* und *Hyalopus onychophilus* scheinen eine gewisse Virulenz für Laboratoriumstiere zu haben. Diese 3 Arten haben in mykologischer Hinsicht wenig Gemeinsames mit unserem Pilz.

Acremonium sp., das von Lehner und Ballagi 1932 beschrieben wurde, muss auch in Erwägung gezogen werden, da die Bezeichnung *Acremonium* von Ballagi als ein Synonym des *Cephalosporium* gebraucht wurde. Die nicht flaumige Kultur, die Kleinheit der Konidien, das Fehlen des Schleimballs sowie die schwache Pathogenität der Kultur bei ihrem Pilz können von dem Befund bei unserem Pilz leicht unterschieden werden.

Unser Pilz hat noch eine sehr eigenartige Eigenschaft, nämlich dass er bei so hoher Temperatur wie 25—37°C gut wächst. Aus allen diesen Erwägungen liegt es nahe anzunehmen, dass unsern Pilz sich von den oben erwähnten unterscheidet. Wir bezeichnen ihn daher mit dem Namen *Cephalosporium keratoplasticum*.

Zusammenfassung

Es wurde bei einer 55-jährigen Bauersfrau, die seit 7 Jahren an einer, der *Tuberculosis verrucosa cutis* sehr ähnlichen, verrukösen Hyperkeratose des linken Fusses leidet, eine Art *Cephalosporium* isoliert. Dieser Pilz muss wegen reichlichen Vorhandenseins in

den Krankheitsherden sowie wegen der starken Pathogenität für manche Laboratoriumstiere als Erreger der Erkrankung angenommen worden. Für diesen neuen Typus der Cephalosporiose wird die Bezeichnung „*Dermatitis verrucosa cephalosporica*" und für den Pilz, der wahrscheinlich von einer neuen Art ist, vorläufig der Name „*Cephalosporium keratoplasticum*" vorgeschlagen.

Literaturverzeichnis

Ballagi, Arch. f. Dermat., **166**, 405 (1932). — Benedek, Arch. f. Dermat. u. Syphilis, **154**, 96, (1928); **156**, 239 (1928). — Beyma, van Th. K., Zbl. f. Bakteriol. 1. Abt., Orig., **130**, 102, (1933); **134**, 187 (1935). — Boucher, Bull. Soc. Path. Exot., **11**, 328 (1918). — Brumpt, Précis d. Parasit. Tom. 2. 1813, édit. Paris Masson et Cie (1936). — Cabrini e Redaelli, Boll. Soc. Med.-Chir. Pavia, **7**, 475, (1929) (Zit. in Zbl. f. Hautkrkh., **33**, 111, 1930). — Dodge, Medical Mycology, 826, St. Louis, C. V. Mosby (1935). — Focosi, Zbl. f. Bakteriol. 1. Abt. Orig., **132**, 237, (1934). — Franchi, Boll. Soz. region. Soc. ital. Derm., **4**, 405, (1935). (Zit. Zbl. f. Hautkrkh., **54**, 1936); Il Dermosifilografico, **12**, (8). 301, (1937). (Zit. in Dermat. Wschr. **105**, 1574, 1937). — Gougerot, Burnier, Duché et Eliascheff, Bull. Soc. Franç. Dermat. et Syphiligr., **40**, 417 (1933). — Grütz, Dermat. Wschr., **80**, 765, (1925); Arch. f. Derm., **156**, 237 (1928). — Hartmann, Dermat. Wschr., **82**, 565 (1926). — Kambayashi, Botanic Magazin. (Japan), **51**, (606), 436, (1937). — Kerl, Zbl. f. Hautkrkh., **30**, 554, (1929). — Kraemer, Zbl. f. Parasitenkunde, **8**, 317, (1936). — Leão et Lobo, Zit. bei Brumpt. — Maffei, Atti Ist. Bot. R. Univ. Pavia, **1**, 183, (1930). — Miller and Morrow, Arch. of Dermat., **25**, 294, (1932). — Negroni, C. R. Soc. Biol., **113**, 478, (1933). — Oomen, Zbl. Bakteriol. 1. Abt. Orig., **134**, 475, (1935). — Pollacci e Nannizzi, I Miceti Pat. Uomo. e Anim., **9**, Nr. 81, (1930). — Rabenhorst, Kryptogamenflora, **1**, Abt. 8. — Schmidt, Arch. f. Derm., **167**, 429, (1933).

Bibliographia Mycopathologica I.

(1938)

Acanfora G., Osservazioni sulle proprietà biochimiche di alcuni saccaromiceti isolati dai lieviti del commercio. Athena, *7* (2),, 113—118, 8 figs. (1938).

Ambrosioni P., *Allantospora violacea* n. sp. ritrovata in un caso di erosione interdigitale. Riv. di Parasitol., *2*, 151—158, 1 tav. (1938).

Baldacci E., Osservazioni morfologiche e culturali su di un raro attinomicete (*Actinomyces melanosporeus* Krainsky). Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., *13*, (4), 223—224, (1938).

Baldacci E., Contributo alla sistematica degli Attinomiceti: IV, Sull'*Actinomyces melanosporeus* Krainsky. Atti Istit. Bot. et Labor. Critt. Pavia, serie IV, *10*, 321—329, (1938).

Baudach F., Beitrag zur klinik der Lungenaktinomykose und tuberkulose. Z. Tuberk., *79*, (4), 228, (1938).

Benedek T., On a new species of the genus *Microsporum*, *M. stilliansi* Benedek, 1937, n. sp. with special consideration of the phenomenon of dissociation in fungi imperfecti. J. Trop. Med. a. Hyg., 1 april (1938).

Berde K. v., Prophylaxe der Mykosen. Dermat. Woch., *106*, (17), 472, (1938).

Bergamasco A., Nuovo metodo per la colorazione rapida dei dermatomiceti nelle squame e nei peli. Diagn. e Tecn. Laboratorio, *9*, 264—268, (1938).

Binkley G. W., A group of cases at tinea capitis. Arch. of Dermat., *37*, 326—327, (1938).

Binkley G. W., Dermatophytosis (from a horse). Archives of Dermat. a. Syphil. *37*, (2), 327, (1938).

Bisbocci G., Osservazioni sulla entero-epatite infettiva nei tacchinotti. Nuovo Ercolani, estratto, (1938).

Bisbocci G., Contributo allo studio della entero-epatite infettiva dei gallinacei (Ricerche micologiche ed anatomo-patologiche). Nuovo Ercolani, estratto, figs. (1938). [*Cryptococcus meleagris* n. sp].

Breitländer, Uteruskarzinom (Korpus) nach Bauchaktinomykose. Roentgenpraxis, *10*, (3), 171, (1938).

Brunn L., Ein Fall von Actinomykosepyämie. Hosp. tid., 16—20, (1938). (Dänisch).

Carrié, Zur Behandlung von Pilzaffektionen. Zentrbl. Haut- u. Geschl., *58*, (3), 162, (1938).

Carrión L. A., Actinomycosis in Puerto Rico. The Puerto Rico J. of Pub. Health a. Trop. Med., *13* ,(3), 367—382, 10 tab. (1938).

Cavallero C., Étude expérimentale sur les phénomènes de la variation et de la dissociation de *Mycotorula albicans* (Robin) Lang. et Tal. Boll. Sez. Ital. Soc. Intern. Microbiol., *10*, (2), 36—43 ,(1938).

Cipollaro C., Blastomycosis. Archives of Dermat. a. Syphil., *37*, (2), 356, (1938).

Comandon J. et P. de Foubrune, La chambre à huile. Ses avantages pour l'étude des microorganismes vivants. La culture des tissus et la micromanipulation. Ann. Inst. Pasteur, *60*, (2), 113—141, figs., (1938).

Coppolino A., Su di un nuovo metodo di colorazione delle spore miceliali. Sez. Sicula Soc. Ital. Dermat. Sifil., 23 febbraio 1938.

Cornbleet T., Actinomycosis. Archives of Dermat. a. Syphil., *37*, (4), 718—719, (1938).

Csillery A. von, Symptomloses Vorkommen von Strahlenpilz in karzinomatöser Zahnalveole. (Geschwulstduplizität?) Deut. Zahn-, Mund-, Kieferheilk., *5*, (2), 102 (1938).

Cudmore J. H., Torula meningo-encephalitis: a case report. Ann. intern. Med., *11*, (9), 1747—1752, 4 figs., (1938).

De Gregorio E., Nota previa el estudio de la flora dermatofitica de Saragoza. Actas dermo-sifil., *30*, 239—241, (1938).

Dienst, R. B., *Cryptococcus histolyticus* isolated from subcutaneous tumor. Archives of Dermat. a. Syphil., *37*, (3), 461—464, (1938).

Duché J. et Romanova J., Contribution à l'étude du pouvoir pathogène des formes filtrantes d'*Actinomyces*. Rev. de Mycol., *3*, (1), 1—6, (1938).

Ebert M. H., Blastomycosis of the nasal septum. Archives of Dermat. a. Syphil., *37*, (4), 711—712, (1938).

Farnes O. J., Bronchopulmonary Moniliasis. Southwestern Med., Phoenix, Ariz., *22*, 41, (1938).

Fawcitt R., The roentgenological recognition of certain bronchomycoses involving occupational risks. Amer. J. Roentg., *39*, (1), 19—31, 15 figs., (1938).

Fazakas A., Ueber die Schimmelpilze des gesunden und kranken Auges. Graefes Arch., *138*, (4), 416, (1938).

Fazakas A., Ueber die Bedeutung der Pilze fuer die Augenheilkunde. Z. Augenheilk., *94*, (5), 253, (1938).

Feinberg S. M., Recent developments in Asthma and Hay fever (Literatura for 1937). J. Allergy, *9*, (3), 282—309, (1938).

Ferrabouc L., Sohier R., Henrion J. et Goulene F., Mycose verruqueuse. Bull. Soc. fr. Dermat. et syphil., (1), 4—7, (1938). [*Trichophyton rubrum*].

Fontana A., Alcune ricerche di dermatologia e fitopatologia comparate. Gior. Ital. Dermat. e Sifil., (1), (1938).

Fraser P. E., Tinea of the foot. Brit. Med. J., 842, 16 avril (1938).

Germain A. et Morveau A., A propos du diagnostic du rhumatisme cérébral: meningo-encéphalite aiguë à *Torulopsis histolytica*. Bull. Soc. méd Hôp. Paris, sér. 3, *54*, (5), 231—234, (1938).

Gibson A. G., Rose-Junes R. H. and Gibson J., Human infection with *Actinomyces caprae*. Brit. Med. J., *1*, 612, (1938).

Girolami, M. I progressi della patologia tropicale in Italia durante l'Era fascista. Stab. Poligrafico Artichi, Modena (1938).

Goering G., Ueber tiefe Blastomykose der Haut. Arch. f. Dermat. u. Syphil., *176*, (5), 568, figs., (1938).

Gohlish, Favus pityroides. Zentrbl. Haut- u. Geschl., *58*, (4), 247, (1938).

Gomes J. M., Chromoblastomycosis caused by a fungus of the genus *Hormodendron*. Archives of Dermat. a. Syphil., *38*, (1), 12—18, 4 figs. (1938).

Gougerot H., Burnier et Duché, Polyépidermomycose disseminée due a *Epidermophyton inguinale* et à *Epidermophyton rubrum*. Bull. Soc. fr. Dermat. syphil. (1), 29, (1938).

Gougerot H., Burnier R. et Varay, Activation d'un sycosis trichophytique par les injections veineuses iodo-iodurées, guérison par la vaseline iodée. Bull. Soc. fr. Dermat. Syphil., (3), 418—419, (1938). [*Trichophyton gypseum*].

Gougerot H. et Patte A., Pityriasis versicolor réticulé. Bull. Soc. fr. Dermat. Syphil., (3), 416—417, (1938). [*Malassezia furfur*].

Gukelberger M., Pneumomykosis mucorina als Sekundärinfektion einer Bronchopneumonie. Dtsch. Arch. Klin. Med., *182*, (1), 28, (1938).

Hager, G, Krebsentstehung und Allergie. Med. Welt., (8), 291, (1938).

Harris L. H., Molds as a cause of Allergy. Ohio State Med. J., *34*, 158, (1938).

Higuti K., Impfversuche mit pathogenen Hefepilzen auf Tiere. Hukuoka Acta Med., *31*, (1), (3), (1938).

Hodge H. M., Lingua nigra. Archives of Dermat. a. Syphil., *37*, (1), 100, (1938).

Jacobson H. P., Effects of roentgen rays on fungi in vitro. Archives of Dermat. a Syphil., *38*, (1), 37—38, 6 figs., (1938).

Jacobson H. P., Granuloma coccidioidale. Arch. of Dermat., *37*, 345—346 ,(1938).

Johnpulle A. L., Temperatures lethal to the green muscardine fungus, *Metharrhizum anisopliae* (Metch.) Sorok. Trop. Agriculturist., *90*, (2), 80—83, 1 graph. (1938).

Jones P. C. and Martin D. S., Identification of yeastlike organisms isolated from the vaginal tracts of pregnant and nonpregnant women. Am. J. Obstet. a. Gynec., *35*, (1), 98—106, 4 figs., (1938). [species of *Monilia*].

Katsura S. K., Inoculation of young *Cicada* nymphs with spores of green muscardine disease. J. econ. Ent., *31*, (1), 124—125, 1 fig., (1938). (*Metharrizum anisopliae*).

Keiper T. W., Studies on yeastlike fungi isolated from pulmonary disease (bronchomoniliasis). J. Lab. clin. Med., *23* (4) 343—354, 4 figs. (1934).

Kile R. L. and M. F. Engman, Further studies of the relation of *Pityrosporum ovale* to seborrheic ecxema. Archives Dermat. a. Syphil., *37* (4), 616—626, 6 figs., (1938).

Kjell Massige, Report on the first observations of *Epidermophyton rubrum* (Castellani-Bang) in Norway, with an historical review. Acta Dermato-venereol., *19*, (2), 209—219, 1 fig., (1938).

Kovâcs A., Aktinomykotisce Meningitis. 6° Tag. ung. pathol. Gesell., Zbl. Pathol., *69*, (7), 260, (1938).

Lane C. G. and Crawford G. M., Measurement of roentgen therapy for tinea capitis. Archives. Dermat. a. Syphil., *37*, (1), 62, (1938).

Langeron M. et Guerra P., Nouvelle recherches de zymologie medicale. Ann. de Parasit. hum. comp., *16*, (1), 36—84, (1938); Ibidem *16*, (2), 162—179, (1938).

Lentze F. A., Zur bakteriologie und Vakzinotherapie der Aktinomykose. I° Mitt., Zbl. f. Bakter., I° Abt., Origin., *141*, (1/2), 21—36, 3 figs., 2 taf., (1938).

Lewis C. M. and Hopper M. E., Infections of skin due to *Monilia albicans*: II°, Immunologic, etiologic and therapeutic considerations. New York State J. of Med., *38*, 859, (1938).

Lewis G. M., Montgomery R. M. and Hopper M. E., Cutaneous manifestations of *Trichophyton purpureum* (Bang). Archives Dermat. a. Shyphil., Chicago, *37*, 823, (1938).

Lindford B. B. and Jap F., Root-knot injury restricted by a nematode-trepping fungus. Phytopathology, *28*, (1), 14—15, (1838). (*Dachtylella ellipsospora*).

Lippelt, Zur Epidemiologie der Blastomyzeten. Aertl. Ver. Hamburg, 14, XII, 1937; Münch. Med. Woch. (20), 779, (1938).

Lomholt J., Ueber die Fussmykosen in Kopenhagen und ihre Behandlung mit Mykokten. Med. Klinik., *34*, (4), 118, (1938).

Lowenfish F. P., Treatment of chronic dermatitis by cataphoretic method. Archives of Dermat. a. Syphil., *37*, 779, (1938). (dermatophytosis, moniliasis).

Marcussen P. V., Die Bedeutung der Sofortreaktion bei der intracutaneum Trichophytenprobe auf der Gumlage von etwa 2000 Untersuchungen. Arch. f. Dermat. u. Syphil., 87—90, 4 figs., (1938).

Martin D. S., The antigenic similarity of a fungus *Cadophora americana* isolated from wood pulp to *Phialophora verrucosa* isolated from patients with dermatitis verrucosa (chromoblastomycosis). The Amer. J. of Trop. Med., *18*, (4), 421—426, (1938).

Martin D. S. and Conant F. N., A comparative study of nineteen strains of *Blastomyces dermatitidis* Gilchrist and Stokes. J. Bact., *35*, (1), 38—39, (1938).

Matras A., Generalisierte lichenoides Epidermophytid. Wien. Klin. Woch., *51*, (3), 95, (1938).

Memmesheimer A. M., Zur Behandlung der Pilzerkrankungen der Hände und Füsse. Dermat. Zeitschr., *77*, (2), 98, (1938).

Memmesheimer A. M., Ueber einen neuen Nährboden für Pilzkulturen. Klin. Woch., *17*, (2), 56, (1938).

Mendelsohn H. V. and Muskatblitt E., Tinea capitis in an adult. New York State J. of Med., *38*, 803, (1938).

Meriine I., A propos de la clinique de la Chromoblastomycose: cas de chromomycose de la peau avec lesion des ganglions lymphatiques régionaux. Ann. de dermat. et syphil., sér. 7°, *9*, (2), 122—137, 6 figs., (1938). [*Hormodendron rossicum*].

Milochevitck S., Ein Versuch der Synthèse in der Gruppe der Dermatophyten. I° Identifikation der Dermatophyten. Zentbl. f. Haut- u. Deschl., *58*, (2), 127, (1938).

Moore M., LXXX: Blastomycosis, coccidioidal granuloma and paracoccidioidal granuloma. Comparative study of northamericans, southamericans and europeans organisms and clinical types. Archives of Dermat. a. Syphil., *38*, (2), 163—190, 11 figs., (1938). [*Coccidioides immitis, Paracoccidioides brasiliensis, P. cerebriformis, P. tenuis*].

Mrak E. M. and See Bonard, The effect of temperature on asci and ascospores in the genus *Debaryomyces*. Mycologia, *30*, (2), 182—185, figs., (1938).

Muehlens K. J., Beobachtungen an drei Cephalosporienstämmen die aus menschlichem Blut und Harn gerüchtet wurden. Zentbl. f. Bakter., I° Abt., Orig., *142*, (3/4), 160—165, 2 figs., (1938).

Mueller, Mikrosporie (2 Fälle). Zentbl. f. Haut- u. Geschl., *58*, (2), 82, (1938).

Mumme C., Zur Pathogenität der Blastomykosen. Aerztl. Ver. Hamburg, 19. XII.1937. Münch. Med. Woch., (20), 774, (1938).

Nicod J. L., Un cas autochtone de blastomycose des méninges. Schweiz. med. Wschr. (10), 234, (1938).

Niño F. L., Las blastomycosis en la Argentina. Apartado del Boletin ed Instituto de Clinica Quirurgica, N. 117, pp. 1—454, 61 lam., 271 figs., (1938).

Pignot M., Rabut R. et Rivalier E., La teigne à l'Ecole Lailler de 1930 à 1937. Presse Med., (19), 345, (1938).

Preininger, Dermatomykosen verursacht durch *Ustilago maidis*. Dermat. Wschr., *106*, (17), 483, (1938).

Quodbach K., Ein Beitrag zur Pathologie der Blastomykose des Zentralnervensystems. Zbl. f. all. Pathol. u. pathol. Anat., *69*, (7), 227—231, figs., (1938).

Rackemann F. M., Randolph T. G., and Guba E. F., The specificity of fungous allergy. The J. of Allergy, *9*, (5), 447—453, (1938).

Rosmainsky J. W., Epidemiologie der Epidermophytie des Fusses. Zentbl. f. Haut- u. Geschl., *58*, (1), 68, (1938).

Rothman, St., Prophylaxe der Fussmykosen. Dermat. Woch., *106*, (17), 478, (1938).

Schmidt P. W., Die Wirkung aetherischer Oele bei experimentellen Pilzinfektionen. Dermat. Woch., *106*, (11), 319, (1938).

Schonwald P., Allergenic molds in the pacific Northwest. The J. of Allergy, *9*, (2), 175—179, (1938).

Sgalitzer G., Aktinomykose der Bauchdecke. Wien. klin. Woch., *51*, (3), 74, (1938).

Siewert, Oberflächliche Trichophytie. Dermat. Woch., 106 (15), 420, (1938).

Simon F., Allergic conjunctivitis due to fungi. J. Am. Med. Ass., *110*, 440 (1938). [*Alternaria, Cladosporium*].

Smith W. J., A case of actinomycosis of the neck. Brit. J. Dermat., *50*, (4), 187, (1938).

Spanedda A., I polisaccaridi batterici. Giorn. di Batter. e Immunol., *20*, (1), 78—168, (1938).

Starlinger F., Intraperitoneale Aktinomykose. Wien klin. Woch., (5), 153, (1938).

Stokes H. J., Moniliasis. Archives of Dermat. a. Syphil., *37*, (4), 680, (1938).

Sulzberger M. B. and Goodman J., Allergy in dermatology: a critical review of recent contribution. The J. of Allergy, *9*, (4), 398—423, (1938).

Tomita U. und Somanouchi G., Actinomykose am Gesäss. Jap. J. Dermat. a. Urol., *43*, (2), 62, (1938).

Turu, H., Histologische Studien ueber Perlèche und Hefepilz im lokalen Belag. Hukuoka Acta Med., *31*, (1), 7, (1938).

Turu, H., Ueber die aus Perlèche kultivierten Hefepilze. Hukuoka Acta Med., *31*, (3), 31, (1938).

Verona O. e Ciferri R., Revisione dei lieviti asporigeni del genere *Sporobolomyces* Kluyver et Van Niel. Atti Istit. Bot. e Lab. Critt., Pavia, serie IV, *10*, 241—255, (1938).

Versari A., Ricerche sul ricambio dell'*Achorion Schonleini*. Arch. ital. di Med. Sperim., *2*, (2), 121—128, (1938).

Watson S. S., A case of actinomycosis of the neck. Brit. J. Dermat. a. Syphil., *50*, (4), 187, (1938).

Wickerham L. J. and Rettger L. F., A study of *Monilia albicans* with emphasis on morphological types and chlamydospore production. J. Bact., *35*, (1), *39*, (1938).

Williams W., Production of surface growth of pathogenic fungi on culture mediums: some factors of importance. Archives of Dermat. a. Syphil., *38*, (1), 32—37, (1938).

Williams J. W., Reduction and concentration of methylene blue by certain pathogenic fungi. J. Bacter., *35*, (3), 305—309, (1938).

Witzigmann J., Klinische Beobachtungen bei der Trichophytie des Hundes. Zentbl. Haut- u. Geschl., *58*, (6/7), 435, (1938).

Wolf Ch., Generalized tinea corporis in six membres of one family. Archives Dermat. a. Syphil., *37*, (3), 541, (1938).

Woolley M. T., Mycological findings in sputum. J. Lab. clin. Med., *23*, (6), 555—565, 6 figs., (1938). [*Monilia albicans, M. candida, Aspergillus fumigatus, A. niger; Torulopsis* sp., *Coccidioides immitis*].

Zurbonsen, Pilzsepsis (Aktinomykosis). Münch. med. Woch., (30), 1170, (1938).

Mycotorula vs. Candida: a plea

by

R. Ciferri and P. Redaelli.

(*From the Botanical Institute, Agric. Faculty, R. University of Firenze and from the Institute of Pathological Anatomy, R. University of Pavia*)

(10.XII.1938.)

The appeal for unification of taxonomy and nomenclature of asporigenous yeasts with pseudomycelium (M y c o t o r u l o i d e a e) recently published by Diddens and Lodder [1]) must be wellcomed amongst students of this group of fungi. After twenty years of amazing splitting of genera and species, a possible agreement would appear to be a sure „bolt for the door" as to the past, and a reliance for the future.

But it is, also, to give up one's-self the power of those indocile microörganisms, „race maudite qui semble n'avoir été creé ou inventée que pour en imposer aux plus habiles" (Vaillant). The unification of the M y c o t o r u l o i d e a e in one genus (that may be called *Mycotorula* or *Candida*, but is in almost perfect agreement with the old medical genus *„Monilia"*) is crossing the path traced by endeavours of very many pionieers of the modern systematizers. The result of twenty years of greater accuracy in biochemical tests, in advancement of morphological discriminations, in improvement of cultural comparisons, is a renouncement.

No doubt that specific and generic entities in asporigenous yeasts are conventional divisions, made on continuative series of linked strains, with quite well recognizable ends, but with intermediates classificable only according to subjective opinions and personal tendencies.

However, this retreat may be convenient in order to stop the present chaotic condition, while searching for a more convenient arrangement.

In agreement with the view expressed almost simultaneously by a few leading students, the reaggregation of asporigenous yeasts with pseudomycelium in two genera (a blastosporic and an arthro-blastosporic one) appears to be useful, at least for practical purposes, may be, with exception of a very few, aberrant and mostly monotypic genera [2]).

The opinions about nomenclature are, instead, divergent. If the well defined genus and the oldest name *Trichosporon* for blasto-arthrosporic yeasts appears to be easily accepted, this can't be said for the quadrimonial situation *Monilia-Syringospora-Candida-Mycotorula* for blastosporic yeasts.

As related to *Monilia* Persoon *versus Monilia* Turpin, and the misinterpretation of *„Monilia"* in medical sense in rapport to *Monilia* in phytopathological sense, the question has been solved since Berkhout's time, this genus being only „nominally" mantained by Castellani and medical authorities, and denied by almost all other specialists. *Syringospora* appears to be an isolated reinterpretation made by Dodge of a doubtful and unrecognizable (may be, also, a sporogenic) entity, this generic name being disused during eighty years.

---

[1]) Diddens H. A. and Lodder J., Mycopathologia, **2**, (1), (1938).

[2]) With the recent readjustment of arthrosporic microörganisms, the unification into the genus *Geotrichum* is also complete.

Only, indeed, the generic name *Mycotorula* and *Candida* are to be seriously considered the first one being suffragated by german and italian students, and the second by dutch and french specialists, amongst others.

In our opinion, the counterbalance appears to be favorable to *Mycotorula* as for the following reasons:

1) Chronological priority of *Mycotorula* Will (1916) *versus Candida* Berkhout (1923). This criterium is, in our mind, the fundamental one in favour of *Mycotorula*, in accord with the International Rules of Botanical Nomenclature, *Mycotorula* being the first and oldest recognizable, unequivocal generic name.

2) Better generic original description of *Mycotorula* in regard to the genus *Candida*, no latin diagnoses being originally secured for both genera. It is true that the type culture of *Mycotorula* has been (probably) lost, but cultural descriptions and biochemical tests were profusely indicated, while micromorphology is quite clear in both genera.

3) The type species of the genus *Mycotorula* is original, while the genus *Candida* has been based on a „conventional" restoration of one old, uneasily recognizable species (*Monilia candida* Bonorden). As conclusion, the fundament of *Candida* in regard to the type species may be discussed, now or in the future, in account of a possible different interpretations of Bonorden's species, the better generic stability being secured accepting *Mycotorula* instead *Candida*.

4) The genus *Mycotorula* has been used in the original signification with exceptions of the restrictive sense accepted by Langeron and Talice, and by Dodge. *Candida* has been quite extensively used in many widely divergent senses, in addition to the original one, namely: a derived, but almost independent reinterpretation defined by Langeron and Talice; the independent restrictive sense employed by Dodge; as a subgenus of the medical „*Monilia*" following Castellani; as a full synonim of medical „*Monilia*" adopted by many students, and, at last, by Langeron and Guerra. In conclusion, now, the signification of *Mycotorula* is clearer than the signification of *Candida*.

5) The rather wide application of the subfamily name Mycotoruloideae would remain in conflict with the generic name *Candida* if adopted instead of *Mycotorula*. It is true that the strict interpretation of Art. 23 of the International Rules of Botanical Nomenclature does not agree with the content of the Art. 24, and finally, the name Mycotoruloideae may stand up also as related with the generic name *Candida*. But the experience of the twofold american and european nomenclature for supergeneric names (Hyphales vs. Moniliales; Sphaeropsidales vs. Phomales; etc.) is admonitory for an eventual future conflict Mycotoruloideae vs. Candidoideae. In addition, it is evident that if the ethymology of the name *Mycotorula* is banal, and the composition of hybridous generation, the generic name *Candida*, a substantivated adjective, is avoided (not forbidded) by the above quoted Rules.

In conclusion, we express our great obligation to Misses Diddens and Lodder for the opening the discussion promoting, as a final goal, a general agreement amongst students of asporigenous yeasts, in both questions: 1) unification of the genera of the asporigenous yeasts, and, if accepted: 2) nomenclature related to it. We also hope that the preliminar conclusions will be elaborated before or during the Third International Congress of Microbiology, in waiting for a final endorsement of decision by the next International Botanical Congress at Stockholm.

Un caso di „Lingua nigra et pilosa" con isolamento di *Mycotorula Guillermondi* (Cast.) n. comb.

per

G. B. Cottini.

(*Dalla Clinica Dermosifilopatica, R. Università di Catania*)

Con la tavola XII.

(25.XI.1938.)

Mi sono indotto a pubblicare la seguente osservazione clinica, non tanto per la relativa rarità della manifestazione morbosa, quanto perchè mi è occorso di isolare da essa un micete, la *Mycotorula Guillermondi*, che non sembra essere mai stato riscontrato in questo tipo di malattia; questa specie è stata isolata la prima volta da Castellani nel Sudan Egiziano da espettorati in casi di broncomicosi e illustrata col nome di *Monilia Guillermondi*; il ceppo originale sembra tuttavia essere andato perduto.

Il presente caso appare poi interessante per spunti di ordine terapeutico.

La malattia di cui mi occupo, chiamata di solito col nome di *lingua nigra et pilosa* o con quello meno completo di *melanoglossia* è in effetti piuttosto rara: essa risale nel primo riconoscimento a Rayer che la distinse dalle comuni colorazioni artificiali o accidentali della mucosa linguale: in seguito fu semplicemente segnalata da Eulenberg e da Bertrand de St. Germain, mentre una descrizione clinica un po' accurata fu data da Raynaud (1869), da Gubler e poco dopo da Dessois (1878) e Wallerand (1890).

La sintomatologia è caratterizzata da *allungamento* più o meno considerevole *delle papille filiformi linguali*, e dal *colore nerastro* che esse assumono, variante nel tono dal nero allo scuro-violaceo, o brunastro, o verdastro. L'inizio, quasi sempre inavvertito dal paziente, è dal V linguale, in chiazze di varia dimensione e confluenti, di forma variata, a contorni ben netti: di lì l'affezione si propaga lentamente verso il davanti e verso i bordi dell'organo, di solito con due strie antero-posteriori separate da un rafe mediano. Esaminando da vicino l'alterazione si è colpiti dall'aspetto particolare della lingua: dopo avere ripulita la superficie linguale col lieve stropiccio di un po' di garza, si rileva la presenza di un numero considerevole di prolungamenti filiformi che fanno corpo con le papille, di cui del resto non sono che un'esagerazione patologica: essi possono raggiungere talora persino la lunghezza di 1 cm, sono disposti ed abbassati in vario senso *„comme des blès versès par l'orage"* (Gubler e Raynaud) e agglutinati dalla saliva e da denso secreto mucoso. I disturbi subiettivi sono rappresentati da sensazione di lingua grossa e di bocca *cattiva*, e talora da senso di nausea per il solletichio prodotto dal contatto dei prolungamenti filiformi contro l'ugola e la volta palatina.

Tale malattia, certo non frequente, si osserva negli adulti e nei vecchi: la sua durata è variabile: in alcuni casi guarisce spontaneamente, in altri mostra una considerevole tenacia.

Il paziente oggetto di questa nota, tale R. Alfio di anni 21, da Mascalucia (Catania) è giovane robusto senza precedenti anamnestici morbosi familiari e personali degni di nota: nulla offre di particolare all'*oggettività clinica* degli organi interni: negativa è la R. di W. come pure negativo è l'esame delle orine: l'intradermoreazione con la tubercolina umana 1 %° ed 1/10000 è stata positiva (++——).

Il soggetto non ha mai vissuto in paesi tropicali o nordafricani. Non è mai stato sofferente per disturbi intestinali o gastrici.

Il giovane si è accorto del male da circa 40 giorni allorché constatò casualmente una chiazza nerastra e villosa situata nella porzione posteriore mediana della lingua, in tutta prossimità del V linguale (fot.1, Tav. XII). Non avvertiva alcuna sensazione molesta. Attribuì la lesione all'eccessivo fumare (sigarette) e ridusse pertanto notevolmente e poi smise l'uso del tabacco. Notando però che la chiazza si estendeva con discreta rapidità verso le parti della lingua ancora indenni venne alla nostra osservazione.

Descrizione della manifestazione: Tutta la porzione posteriore mediana della lingua, ad eccezione di un bordo della lunghezza di circa un cm. ai lati e di 3 cm. sulla punta di aspetto normale, appariva di colore marrone-bruno per la presenza di numerosi prolungamenti filiformi (alcuni nella porzione più posteriore raggiungevano anche circa 5 mm. di lunghezza) facenti corpo con le papille filiformi linguali, sottili, delicati, appena più erti di un pelo del corpo; esaminati dopo asportazione con lieve stropiccio essi apparivano di colore marrone nella metà inferiore, e bruno con intonazioni bluastre nella loro metà o terzo terminale.

Il leggero strofinio con un foglietto di garza aveva determinato la rottura e l'asportazione di un numero piuttosto cospicuo di tali filamenti; alcuni vennero *esaminati al microscopio.* Essi apparvero come dei lunghi cilindri brunicci a base meno pigmentata nella porzione distale filiforme più sottile terminante a punta senza sfiocchettatura. Tali cilindri erano costituiti da cellule epiteliali piatte, prive di nucleo e talmente stipate le une contro le altre da riuscire difficile di definirne i contorni: ogni tanto però qualcuna si staccava dalla massa del cilindro e formava una piccola sporgenza che ricordava in certo qual modo la barba di una piuma. Il colore bruniccio appariva dovuto alla tinta della sostanza assunta dalla stessa sostanza cornea e non a sostanze estranee od a pigmento.

Esami di laboratorio:

Trattato il materiale con potassa caustica al 40 % non furono veduti né elementi miceliali né spore.

Tubi di agar insemenzati con materiale prelevato per stropiccio diedero sviluppo in taluni a ceppi di stafilococchi.

L'esame microscopico della saliva colorata con Gram, Pappenheim, Ziehl, Fontana dimostrò germi vari a tipo di cocchi Gram-positivi e Gram-negativi e varie spirochete dentium (paraboloide).

Riporto quì il reperto ottenuto da *semine di materiale* su tubi di Sabouraud-Difco.

Il terreno di cultura si è dimostrato particolarmente adatto e favorevole allo sviluppo del fungo. Dopo 24—48 ore la superficie di semina appariva con piccole colonie bianche, di aspetto cremoso, di uno o due mm. circa di diametro che nei giorni seguenti hanno confluito (fot. 2, Tav. XII) in colonie più grandi sempre con i medesimi caratteri macroscopici e solo, in qualcuna, con la comparsa di una lieve pieghettatura od irregolarità di superficie che interessava tutta la superficie della colonia o soltanto la sua parte centrale o la periferia. In colonie di culture vecchie si poteva notare la tendenza ad irregolarità dei contorni quasi simulanti l'aspetto o la tendenza a prolungamenti.

Ho inviato dei tubi al Prof. Redaelli per l'*identificazione del ceppo.* Le osservazioni fatte hanno dimostrato che i caratteri culturali, ma sopra tutto micromorfologici e morfogenetici, erano di una specie del genere *Mycotorula*: per le fermentazioni (che sono le più probative rappresentanti della biologia „in vitro" di questi microrganismi, non avendo oggi più valore il comportamento di fronte al latte ed alla gelatina) la specie è stata identificata con la *Monilia Guillermondi;* infatti il ceppo ha fermentato dopo un giorno solo il *glucosio*, dopo quattro giorni il *glucosio* ed il *saccarosio* abbondantemente (con acidificazione intensa del *levulosio*, del *maltosio*, e del *galattosio*) ed il *mannosio.*

La *Monilia Guillermondi* è stata isolata, come si è detto, la prima ed ultima volta da Castellani nel Sudan Egiziano da espettorati di casi di broncomicosi: dopo non è stata più ritrovata e si pensa anzi che il ceppo originale è stato perduto.

La morfologia indicata da Castellani è quanto mai semplice ed incompleta tanto che non è dato veramente di sapere con che specie morfologica Castellani abbia avuto

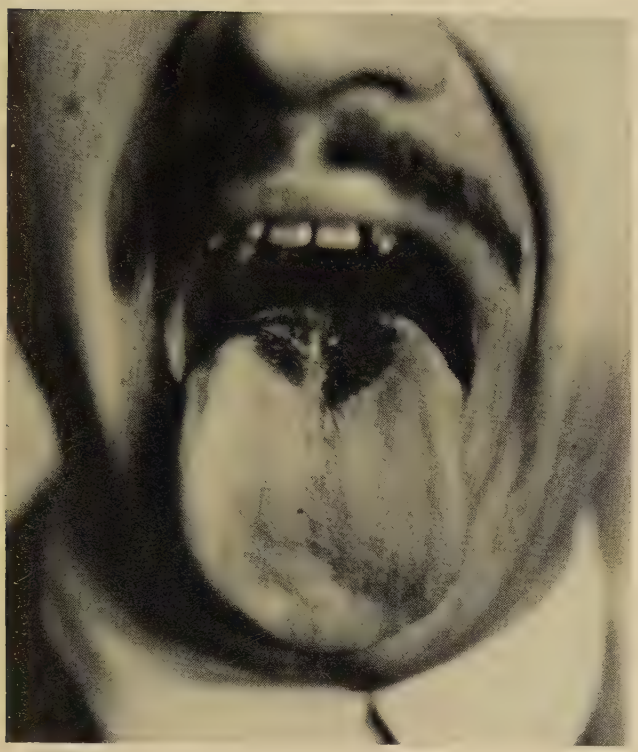


Fig. 1.

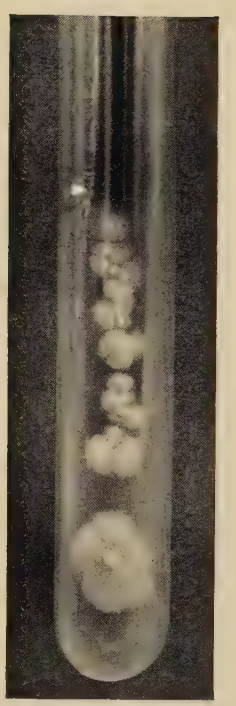


Fig. 2.

Fig. 1. Caratteristico aspetto della lingua nel caso di „lingua nigra et pilosa".
Fig. 2. Caratteri colturali della *Mycotorula Guillermondi* (Cast.) in agar Sabouraud-Difco.

a che fare: questo autore ci dà di preciso solo le fermentazioni ed è in base a queste che si è creduto di reidentificare nel ceppo allo studio quello originale del Castellani. Infatti le fermentazioni (che hanno certo un valore specifico molto grande) corrispondono.

Nella letteratura vi è un'altra specie che assomiglia alla *Monilia Guillermondi* ed è la *Monilia Muhira* Mattlet 1926, isolata dalla gola, nell'Urundi Belga. Questa somiglianza (le divergenze si riferiscono a piccoli dettagli biochimici) è messa in rilievo anche da Nannizzi (Per altri riferimenti bibliografici, a dire il vero assai succinti, vedi anche Castellani e Chalmers; Dodge C. W.).

Ad ogni modo per i caratteri sopradetti il ceppo si deve ritenere identificato e passato alla nomenclatura odierna come segue:

Mycotorula Guillermondi (Castellani) n. comb. Cottini et Redaelli 1939.

Syn. = *Endomyces Guillermondi* Castellani 1910.
= *Monilia Guillermondi* Castellani 1911.
= *Myceloblastanon Guillermondi* Ota 1928
= *Castellania Guillermondi* Dodge 1935.

Potere patogeno delle culture:

Le culture della nostra *Mycotorula* non sono state patogene per il coniglio per iniezioni endovena od endoperitoneali. La cavia ha tollerato molto bene l'inoculazione in peritoneo, e per iniezione sottocute non si è verificata alcuna reazione locale e neppure sono comparsi disturbi generali apparenti. Solo si ebbe dimagramento evidente e rapido di tutti gli animali: reperto autopsico negativo. Culture di ritorno da organi interni, negative.

Due cavie ed un coniglio ricevettero la *Mycotorula* per frizioni sulla lingua: nulla di patologico ha dimostrato l'osservazione protratta per sei mesi circa.

Terapia e decorso della malattia:

Iniziai trattamento generale con Vogan in goccie per os (20 goccie al dì = 96000 U.I.). Nessuna cura locale fu istituita e prescrissi solo lavaggi della bocca con blandi disinfettanti. Il paziente ripresentatosi dopo un mese di questa cura era quasi completamente guarito: residuava solo un piccola chiazzetta nella parte più posteriore della lingua, ancora di colore bruniccio. Consigliai di continuare la cura con Vitamina. Il malato non è stato poi più riveduto.

Dal punto di vista clinico non vi è dubbio sulla diagnosi di *lingua nigra et pilosa* che, secondo la distinzione fatta da Heidingsfeld, deve rientrare nella seconda categoria delle forme secondarie e non in quella della forme idiopatiche o neviche.

Restava da determinarne quindi la possibile causa.

Due sono i dati che a questo riguardo, nel mio caso, devono essere considerati: il reperto del fungo, ed il brillante risultato della terapia con vitamina A.

Quantunque la *melanoglossia* non sia nè contagiosa nè inoculabile, tuttavia l'aspetto ed il decorso hanno da tempo spinto verso la ricerca e la dimostrazione di una causa esterna parassitaria. Dallo studio di parecchi autori ci si orienterebbe maggiormente verso cause di ordine micotico. Raynaud ha trovato, tra numerosi microrganismi saprofiti, un fungo a piccole spore che Dessois descrisse e chiamò *glossophyton*; Lucet coltivò un *Cryptococcus linguae pilosae*; Emery, Gastau e Nicolau incolparono una *Leptothrix* non meglio determinata. Hegnix riscontrò un *Rhizopus niger*, e Sartory e Schäffer, Fancheaux e Casablanca parlarono di simbiosi di *Oospora lingualis* con *Cryptococcus linguae pilosae*. Anche Roget e Weil trovarono il *Cryptococcus linguae pilosae* associato ad un parassita filamentoso che Gueguen studiò e descrisse nel 1908 sotto il nome di *Oospora lingualis*. Weidman in un uomo di 63 anni ha isolato un fungo che ha creduto poter riaccostare alla *Nocardia tenuis* di Castellani: essa era in associa-

zione con un cocco elaborante del pigmento. Catanei e Montpellier hanno riferito di un caso di *Monilia paratropicalis* Castellani (1910): Roget ancora nel 1921 isolò un fermento ed una batteriacea filamentosa. Un importante studio su questo argomento è quello di Laber del 1917 al quale rimandiamo.

Considerando quindi il caso da un punto di vista strettamente micologico devo notare che la mia osservazione porta fra le specie fungine sino ad ora note, un nuovo individuo.

Non posso dire con certezza che nel caso specifico la *Mycotorula Guillermondi* isolata sia la causa efficiente della lesione linguale; i risultati sperimentali negativi mi lasciano in questo dubbio. Forse invece mi sento spinto a credere che essa rappresenti solo un ruolo di saprofitismo (sia pure di aspetto particolare) su di una lingua nigra che riconosce altra eziologia, in ciò anche confortato da quello che la ricerca bibliografica mi ha potuto mostrare poiché, ad esempio, se non trascurabile fino ad oggi è stato l'isolamento di funghi da siffatte lesioni, pur tuttavia si rimane un po' disorientati dinnanzi alla notevole varietà di specie di volta in volta ritrovate: si può anzi quasi dire a questo riguardo che, per ogni caso, un diverso fungo è stato repertato.

Ora due sono le possibilità: o i funghi isolati possiedono tutti delle qualità intrinseche capaci di rendere la superficie linguale *nigra et pilosa*, il che appare poco probabile non solo per la grande varietà dei reperti ma anche perché fino ad oggi non è stato portato da nessuno il dato dimostrativo sperimentale di riproduzione della malattia, oppure i funghi nella *lingua nigra et pilosa* non sono che degli ospiti i quali, pur non giocando un ruolo di assoluto parassitismo, tuttavia sopraggiungono, si impiantano e vivono quando l'alterazione linguale è già instaurata per la spinta di altri fattori.

Tali fattori potrebbero essere, o *congeniti* nel senso di uno stato particolare abnorme della mucosa che condizionerebbe la reazione di fronte a cause esterne che agirebbero dopo la nascita (prima categoria di Heldingsfeld), o *tossi-irritativi* capaci di rivelare una disposizione di questo genere o di dar luogo ad una localizzazione di questo tipo, o *vitaminici* capaci di creare (specialmente sulla cute ma anche sulle mucose) attraverso a modalità diverse dal fattore terreno (congenito), ma diverse anche dal fattore tossi-irritativo, delle anomalie che faciliterebbero molto l'iniziarsi e lo stabilirsi della malattia locale (Cottini). Mi spinge a prospettare l'esistenza di questi fattori di ordine generale, specialmente in relazione con il mio caso, tanto il fatto che con relativa facilità in Sicilia si incontrano stati distrofici cutanei caratterizzati da cheratosi, ittiosi, spinulosismo per i quali sono stati già da molti autori affacciate le relazioni ed interferenze con la *lingua nigra et pilosa* (la quale appunto nel mio caso potrebbe essere una localizzata espressione di tale stato latente distrofico), quanto la conoscenza che si va sempre più approfondendo tra questi aspetti cutanei e la carenza di vitamine; nonché infine il brillante risultato terapeutico da me ottenuto nel soggetto con la terapia vitaminica A. (Vogan).

Si tratta però di un solo caso, e per quanto esso sia stato ben seguito e controllato, desidero tuttavia limitarmi ad una semplice esposizione dei fatti senza trarre considerazioni che potrebbero più tardi anche risultare eccessive: tuttavia non posso non annotare la probabilità che nel mio caso ad una carenza vitaminica A „sui generis", parziale, condizionata o che so io, di tipo fondamentale, si sia associato un fattore esterno in dipendenza dell'abnorme disposizione della mucosa linguale: la modificazione del substrato base per azione del complesso vitaminico avrebbe inibito ogni ulteriore azione aggiunta della *Mycotorula*. Se inoltre penso che il tipo di *Mycotorula* isolata sembra, per quanto oggi ne conosciamo, essere un lievito che abita nelle vie aeree e digerenti

superiori, l'isolamento ottenuto potrebbe assumere maggiormente il carattere di un fattore secondario causale sovrapposto agente in conseguenza di una instaurata condizione ambientale favorevole al suo sviluppo.

Come conclusione di questa osservazione posso dire che ai numerosi casi di *lingua nigra et pilosa* finora descritti si deve aggiungere anche quello di *lingua nigra et pilosa* con isolamento di *Mycotorula Guillermondi* (Castellani) n. comb. Cottini et Redaelli 1939; tale caso oltre alla originalità del reperto offre anche il rilievo di una guarigione quasi completa dopo terapia con vitamina A protratta per circa un mese.

Summary

Mycotorula Guilliermondi has been found in a case of „lingua nigra et pilosa". The disease has been effectively cured with a treatment with „A" Vitamin during a month.

Bibliografia

Castellani, A. and Chalmers, A., Manual Trop. Med. a. Hyg., (1919). — Catanei et Montpellier, Ann. Dermat. et Siphyl., 78, (1926). — Cottini, G. B., La Riforma Medica, (36), (1936). — Dessois, Thèse de Paris, (1878). — Dodge, C. W., Medical Mycology, (1935). — Emery, Gastau et Nicolau, Ann. Dermat. et Siphil., 144, (1903). — Fancheaux und Casablanca, Zbl. f. Haut u. Geschl., **10**, 436. — Hegnix, Zbl. f. Haut u. Geschl., **1**, 417. — Lebar, Ann. Dermat. et Siphil., 450, (1917). — Lucet, Arch. d. Parasit., (1901). — Nannizzi, Repertorio sistematico dei miceti dell'uomo e degli animali, Siena, (1934). — Raynaud, Soc. méd. d. Hôpit., 26 feb., (1869). — Roget et Weil, Ann. Dermat. et Siphil., 838, (1903). — Roget, Gaz. d. Hôpit., 13 oct., (1921). — Sartory und Schäffer, Zbl. f. Haut u. Geschl., **5**, 486. — Weidman, Arch. of. Derm. a Syphil., 647 (1928).

Oidium albicans Robin [*Mycotorula albicans* (Rob.) Lang. et Tal.] e *Monilia pseudotropicalis* Castellani [*Mycocandida pseudotropicalis* (Cast.) Cif. et Red.]

per

O. Verona e O. Malaguzzi-Valeri.

(*Dall'Istituto di Patologia Vegetale e Microbiologia Agraria e dall'Istituto di Clinica Pediatrica della R. Università di Pisa*)

Con una figura.

(18.X.1938.)

Il recente lavoro di R. Ciferri, P. Redaelli e C. Cavallero, relativo alla posizione sistematica ed alla sinonimia di *Mycotorula albicans* (Robin) Lang. et Tal., ci ha offerto occasione di rivedere, rispetto a questa e sotto lo stesso punto di vista, la *Monilia pseudotropicalis* Cast. in un ceppo isolato da uno di noi da feci di bambino.

La questione meritava di essere riesaminata non apparendo ancora chiaro, per le discordi opinioni in proposito, se e fino a qual punto le due specie potessero ritenersi distinte.

La *Monilia pseudotropicalis* fu sommariamente descritta, sotto il binomio *Endomyces pseudotropicalis*, da Castellani nel 1910 e dal medesimo poi passata, con la stessa denominazione specifica, al gen. *Monilia* (1913). Berkhout, nel 1923, la trasferì nel genere *Candida* (lo stesso binomio fu usato da Basgal nel 1931) mentre nel 1918 Froilano de Mello e Gonzaga Fernandes la chiamano *Atelosaccharomyces pseudotropicalis*. Ota, nel 1928, la chiama *Myceloblastanon pseudotropicalis* e, infine, Dodge, nel 1935, la chiama *Castellania pseudotropicalis*. Nella rassegna del 1935, Ciferri e Redaelli rivedendo il ceppo originale lo assegnano al genere *Mycocandida*.

In ogni caso, nessuno degli AA. citati, intese di assimilarla a *Mycotorula albicans*; nè, invero, risulta abbiano eseguito studi comparativi al riguardo. Solo nel 1931 Stone e Garrod indagando metodi di diagnosi differenziale delle diverse *Monilia*, conclusero come, per le caratteristiche sierologiche (deviazione del complemento e precipitazione) *Monilia pseudotropicalis* sia diversa da *M. albicans*. Avvicinarono piuttosto alla prima, sempre in base alle caratteristiche sierologiche, *M. macedoniensis*, *M. Krusei*, *M. variabilis*; alla seconda, invece, *M. Pinoyi*, *M. tropicalis*, *M. candida*, *P. psilosis*, *M. metalondinensis*.

Nel 1932 Stovall e Bubolz, comparando le caratteristiche colturali e biochimiche di oltre 200 ceppi di *Monilia*, fissarono tre tipi fondamentali (*Monilia* tipo I, II, III) al secondo dei quali sarebbero da riportarsi, tra le altre, *M. albicans* e *M. pseudotropicalis*.

Prove di agglutinazione e sierologiche eseguite sui tre diversi tipi da Almon e Stovall (1934) non dettero luogo a differenze apprezzabili.

Nella rassegna del 1935 esposta da Ciferri e Redaelli le due specie furono descritte separatamente ed a questi Aa., anzi, si deve il passagio della *Monilia pseudotropicalis* al genere *Mycocandida*.

Nel 1937 Martin, Jones e Lee istituirono, dall'esame di 169 ceppi diversi, 6 gruppi. Tipo di uno di tali gruppi sarebbe la *M. albicans* ed entro questo rientrerebbe, tra l'altro, anche la *M. pseudotropicalis*.

Nel lavoro, infine, del tutto recente di CIFERRI, REDAELLI e CAVALLERO, *M. pseudotropicalis* non figura inclusa nel lungo elenco degli accertati o ritenuti sinonimi di *M. albicans*.

Appare evidente, adunque, la non identità di vedute al riguardo; per cui, come è stato premesso, non si è ritenuto fuori luogo di riportare le caratteristiche più importanti di *M. pseudotropicalis*, rielaborandone la diagnosi non senza infine metterla al confronto con la *Mycotorula albicans* della quale, secondo noi, nettamente si differenzia.

MYCOCANDIDA PSEUDOTROPICALIS (Cast.) Cif. et Red. 1935.

= *Endomyces pseudotropicalis* Castellani 1910.
Monilia pseudotropicalis Castellani 1913.
Atelosaccharomyces pseudotropicalis F. de Mello et Gonzaga Fernandes 1918.
Candida pseudotropicalis Berkhout 1923.
Myceloblastanon pseudotropicalis Ota 1928.
Candida pseudotropicalis Basgal 1931.
Castellania pseudotropicalis Dodge 1925.

Caratteri colturali:

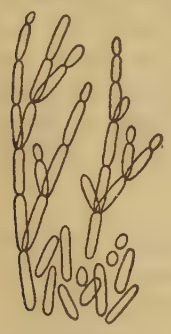
su agar-malto in cultura a striscio, patina superficiale bianca, opaca, poltacea, abbondante, ad orlo continuo o lobato, di facile crescita; su agar-carota, agar fagioli, agar pepto-maltosato (SABOURAUD) caratteri identici. Colonia gigante in agar-malto ed in agar glucosato Difco, dopo 15 giorni a 24°C, rotonda, grande circa un centimetro e mezzo, bianca, cremosa, liscia in superficie; la parte centrale è piatta o leggermente sopraelevata, comunque ad orlo degradante; questo, talvolta, si presenta leggermente striato, sempre irregolarmente solcato radialmente, poco mammellonato o frangiato.

In malto non si ha formazione evidente nè di anello nè di velo; il liquido intorbida leggermente mentre si forma deposito al fondo.

In gelatina sviluppa in superficie e lungo il fittone ove si formano ramificazioni laterali. Assenza di fluidificazione. Nel latte sviluppa bene, ma nè coagula, nè peptonizza.

Caratteri micromorfologici:

tanto in mezzi solidi che liquidi l'apparato filamentoso è piuttosto tardo a comparire. Dapprima non si hanno che cellule ovalari più o meno vacuolate, di μ 3.4 × 6.3—7.1 su agar saccarosato e μ 4.4—6.3 × 8.8—7.1 su agar malto. Indi compaiono formazioni arborescenti gemmanti di tipo *Blastodendrion* con accenni a lunghi segmenti che si articolano ma che non portano che una blastospora terminale. Infine appare evidente il tipico aspetto di *Mycocandida* che prevale di gran lunga su rari aggregati a verticillo tipo *Mycotoruloides*.



Aspetto micromorfologico di *Mycocandida pseudotropicalis*.

Caratteri biochimici:

Fermentazione:

	sec. CASTELLANI	sec. ASHFORD	nostro ceppo [1])
levulosio . .	+	+	+
glucosio . .	+	+	+
mannosio . .	?	?	+
saccarosio .	+	+	+
galattosio . .	+	+	+
maltosio . .	+	+	+
lattosio . . .	+	+	+
raffinosio . .	?	?	?

[1]) con produzione di gas e acido.

Assimilazioni:

sorgenti carbonate		sorgenti azotate	
levulosio	+	asparagina	+
glucosio	+	peptone	+
mannosio	+	nitrito potassico	—
saccarosio	+	nitrato potassico	—
galattosio	+	solfato ammonico	+
maltosio	+	urea	+
lattosio	+		
raffinosio	+		
inulina	+		

Caratteri sierologici:

una emulsione fresca di due ceppi di *Mycotorula albicans* (ceppo A e ceppo B) è stata confrontata con diluizioni crescenti di siero di coniglio preparato con il ceppo di *M. pseudotropicalis* introdotta endovena. E' risultato:

diluizioni:	$^1/_5$	$^1/_{10}$	$^1/_{20}$	$^1/_{40}$	$^1/_{80}$	$^1/_{160}$	C
ceppo A	++	++	++	+	—	—	—
ceppo B	++	++	++	+	—	—	—

La stessa prova è stata ripetuta con siero controllo (coniglio normale):

diluizioni	$^1/_5$	$^1/_{10}$	$^1/_{20}$	$^1/_{40}$	C
ceppo A	+	—	—	—	—
ceppo B	+	—	—	—	—

Esiste dunque agglutinazione di gruppo fino a diluizione 1 : 40; ed agglutinazione aspecifica a diluizione molto più modesta (1 : 5).

Caratteri patogenetici:

introdotta endovena in animali da laboratorio ne produce la morte entro le 24—48 ore a seconda delle quantità inoculate.

Habitat: isolata da materiale patologico di affezioni dell'apparato tonsillare, polmonare e digerente a Ceylon, in Europa (Italia) e Stati Uniti d'America.

Breve diagnosi:

colonia gigante su agar glucosato Difco dopo 15 giorni a 24°C, subrotonda, bianca, opaca, cremosa, densa, con un umbone centrale e rare strie radiali; margine liscio. Caratteristiche micromorfologiche tipiche del gen. Mycocandida ancorchè tarde a comparire con scarsi accenni al tipo Mycotoruloides. Fermenta glucosio, levulosio, mannosio, saccarosio, galattosio, maltosio, lattosio, non raffinosio. Assimila le predette sorgenti di carbonio; ed inoltre, tra le sorgenti azotate: urea, asparagina, peptone, solfato d'ammonio; non nitrito e nitrato di potassio; non liquefà la gelatina, non coagula il latte. Patogena per gli animali di laboratorio e per l'uomo da dove è stata isolata in casi di affezioni dell'apparato tonsillare, polmonare, e digerente (Ceylon, Italia, S.U. di America).

Oss.: Nonostante l'analogia del nome specifico è diversa da *Candida tropicalis* (Cast.) Red., e, come si è affermato, da *Mycotorula albicans* (Robin) Lang. et Tal. Ne differisce per la fisionomia micromorfologica e per i caratteri delle fermentazioni oltre ad altri di secondaria importanza.

Del tutto recentemente (1938) Lodder e Diddens studiando un ceppo di *M. pseudotropicalis* lo hanno trovato sporigeno e pertanto riferito, attesi gli altri caratteri ausiliari, a *Sacch. fragilis* Jörgensen.

Il fatto osservato non sorprende data la ormai quasi generale tendenza a ritenere i lieviti anascosporei come forme regredite di forme superiori e nelle quali, sotto l'influenza di particolari fattori, si è andata perdendo la facoltà di sporificare. Per cause non bene

precisabili tale facoltà può benissimo ripristinarsi. Noi stessi, ad es., studiando alcuni ceppi isolati da uve (Boll. Facoltà di Agraria d. R. Università di Pisa, vol. XII, 1936) mentre si ricordava come KUFFERATH, SACCHETTI ed altri siano propensi di ritenere le specie di *Mycoderma* capaci di formare spore, si argomentava come, almeno in gran parte, tali specie potessero riferirsi al Gen. *Pichia* in considerazione dell'analogo comportamento colturale, morfologico e fisiologico. Altresì, lo studio in corso, con R. CIFERRI ,di alcuni lieviti industriali ha rivelato in molti stipiti sporigeni forme di accrescimento riferibili al Gen. *Mycotorula*.

Ora, il ceppo di *M. pseudotropicalis* da noi preso in esame non si è dimostrato capace di sporificare. Con tutto ciò non ci sembra che la descrizione fattane possa rendersi infirmabile anche perchè essa ha il solo scopo di differenziare la specie (a prescindere dal carattere sporigeno) da *M. albicans*.

D'altronde, la recente segnalazione di LODDER e DIDDENS come altre precedenti (v. per es. quanto si riferisce a *Debaryomyces neoformans*) e la conseguente attribuzione di forme anascosporee a forme note o non note ascosporee, nessun valore tolgono alle descrizioni esistenti delle prime anche perchè è sotto questo stato che il più delle volte vengono isolate o studiate. E le denominazioni relative possono benissimo essere mantenute allo stesso titolo per il quale si mantengono quelle attribuite alle forme Mucedinee macroneme ancorchè il progresso degli studi abbia reso noto di queste lo stato ascoforo.

Riassunto

Gli AA., sulla base dello studio colturale, micromorfologico, biochimico e biologico di un ceppo isolato dalle feci di un bambino, rivedono la diagnosi e la posizione sistematica di *Mycocandida pseudotropicalis* (Cast.). Cif. et Red., insistendo sui suoi caratteri differenziali nei confronti di *Mycotorula albicans* (Robin) Lang. et Tal. e di *Candida tropicalis* (Cast.) Red.

Summary

The AA. through a coltural, micromorphological, biochemical and biological study of a yeast isolated from the feces of a child, revised the diagnosis and the systematic position of *Mycocandida pseudotropicalis* (Cast.) Cif. et Red., insisting on the differential characters in relation to *Mycotorula albicans* (Robin) Lang. et Tal., and to *Candida tropicalis* (Cast.) Red.

Bibliografia

Almon, L. and W. D. Stovall, J. Inf. Dis., **55**, 12, (1934). — Ashford, B. K., The Porto Rico J. of publ. Health a. trop. Med., **8**, (1), 7, (1932) — Basgal, W., Contr. estudo blastomycoses pulmonares, **49**, (1931) — Berkhout, M., Die Schimmelgeschlachten *Monilia*, *Oidium*, *Oospora* en *Torula*. Utrecht, (1923) — Castellani A. and A. J. Chalmers, Manual of Trop. Med., Ed. III, London, (1919) — Ciferri, R. e. Redaelli, P., Arch. f. Mikrobiol., **6**, 9, (1935) — Ciferri, R., P. Redaelli e. C. Cavallero, Mycopathologia, **1**, 115, (1938) — Dodge, C. W., Medical mycology, St. Louis, (1935) — Froilano de Mello et Gonzaga Fernandes, Arq. Hig. Pat. Exot., **6**, 264—268, (1918) — Martin, D. S., P. C. Jones, ecc., J. Bacter., **34**, 99, (1937) — Ota, M., Jap. J. Dermat. Urol., **28**, (1928) — Stone, K. and L. P. Garrod, J. Path. Bact., **34**, 429, (1931) — Stovall ,W. D., and A. A. Bubolz, J. Inf. Dis., **50**, 73, (1932); J. Publ. Health, **22**, 493, (1932).

Introduzione allo studio degli Attinomiceti

del

Elio Baldacci.
(*Dal Laboratorio Crittogamico di Pavia.*)

Con le tavole XIII—XV.

(1.I.1939.)

Premessa

Lo scopo di questo lavoro é di riassumere nelle linee generali quanto si é scritto in questi ultimi anni a proposito di questi microrganismi sui quali vertono studi di patologia umana, animale e vegetale, ricerche di microbiologia e studi di sistematica. E' nostro intento di chiarire quest'ultimo aspetto del problema, che, se é il meno brillante, non é meno necessario ed utile, mentre il nostro personale contributo sperimentale ci induce a esporre le idee che ci siamo venuti facendo, durante le ricerche. Potrà sembrare questo nostro zelo eccessivo, dati i numerosi lavori comparsi sull'argomento e dato che il tema stesso é stato oggetto di relazione al recente VI° congresso Nazionale Italiano di Microbiologia, in una chiara esposizione del Puntoni (47). Ma, come avremo modo di indicare più avanti, in questa relazione l'A. non trattò deliberatamente alcuni punti e sopratutto quelli di carattere bibliografico e sistematico, riferendo in preferenza le ricerche personali di 8 anni di lavoro. Questo e le discussioni che si ebbero in seno allo stesso Congresso e i lavori apparsi, nel frattempo, ci indussero alla stesura della presente memoria. Neppure questa potrà considerarsi un punto di arrivo nella sistematica di questi microorganismi; speriamo invece vivamente che essa possa costituire un altro passo in avanti e un programma per una ulteriore sperimentazione.

Il lavoro é diviso in 4 parti. Nella prima sono riassunti i lavori più fondamentali sulla morfologia e biologia degli attinomiceti, dai quali risulterà come sia stata sentita da tutti la necessità di una divisione in gruppi diversi, il cui rango sistematico e i relativi termini nomenclatoriali saranno solo discussi nella seconda parte. Questa seconda parte é pertanto originale e di critica. La terza parte traccia le linee di una nuova classificazione in base alle idee esposte. La quarta parte esamina i rapporti fra gli attinomiceti e la patologia umana e vegetale e discute il valore patogenetico dei vari gruppi precedentemente identificati, elencando infine le specie meno note e più recenti. A questo proposito si deve finora rilevare che l'elenco fatto dal Bergey e AA. (7) é incompleto e deve necessariamente essere aggiornato.

La morfologia degli Attinomiceti

La diversità degli aspetti colturali e morfologici degli attinomiceti era stata rilevata fin dai primi ricercatori, sebbene le scarse conoscenze e le difficoltà di tecnica e il criterio della specificità patologica avessero indotta la grande maggioranza a ritenere che gli attinomiceti costituissero un omogeneo gruppo del rango sistematico del genere. Ricordiamo solamente che la distinzione in sezioni: *maiores*, *minores*, e *breviores* prende appunto le mosse da questa disparità morfo-colturale e non ci attardiamo ad illustrare

particolarmente le varie opinioni poiché ciò costituisce la base di un lavoro monografico di cui sarà detto nella parte 4°. Iniziamo la nostra revisione con le ricerche dell'Orskov (42) (1923). E' merito di questo A. di aver dimostrato per primo le disparità morfologiche dei ceppi classificati come attinomiceti in maniera luminosa e con una tecnica precisa. Per ragioni di esposizione non terremo tuttavia l'ordine cronologico ma trarremo partito dalle varie idee degli AA. successivi in modo da poter giungere nella maniera più chiara e breve alle conclusioni. Per quanto riguarda gli AA. anteriori a questo, il più ricordato é forse il Pinoy (43), tuttavia né questi né altri riuscirono a dare dei quadri sperimentali e sistematici tali che possano interessarci.

Orskov (42) distinse in via tassativa e sperimentale 3 tipi o gruppi di attinomiceti, con definite e precise caratteritiche morfologiche che qui riassumiamo riportando diretta mente dall'A.

Gruppo 1°: Gli attinomiceti di questo gruppo formano un micelio unicellulare sulla superficie del mezzo; il micelio a contatto del mezzo stesso é indicato come *micelio del sustrato*, per distinguerlo da un *micelio aereo*, il quale vi si produce al di sopra, a contatto dell'aria. Il micelio del sustrato rimane indiviso durante lo sviluppo. Quando questo sviluppo sopra una determinata area del mezzo é cessato, si forma il micelio aereo emergendo dai filamenti del micelio del sustrato. Il micelio aereo ha aspetto in prevalenza polverulento ed usualmente é bianco; esso si forma più costantemente su mezzi poveri. I suoi filamenti sono generalmente più larghi di quelli del micelio del sustrato e più ramificati. Dopo un certo tempo il protoplasma delle ife aeree si divide in parti regolari all'incirca di eguale grandezza (senza apparizione di setti) e che sono separate le une dalle altre per mezzo di una strozzatura della tunica dell'ifa. Queste parti appaiono ovali o sferiche o cilindriche e comparate con il micelio del sustrato, più resistenti agli agenti esterni. Per queste motivi e per le modalità della loro formazione sono considerate come „spore".

Gruppo II°: E' diviso in due sottogruppi:

Gruppo II° *a*: Gli attinomiceti di questo sottogruppo formano inizialmente un micelio indiviso, distinguibile dal precedente per il suo aspetto polimorfo. Le prime ife aeree si formano per tempo su tutti i mezzi ma sono indistinguibili dai filamenti del sustrato. Dopo un certo tempo sia il micelio del sustrato sia quello aereo si dividono in fragmenti per mezzo di setti derivanti dalle membrane delle ife, di forma e di grandezza variabile e non provvisti, come le „spore" del 1° gruppo, di maggior resistenza agli agenti esterni. L'A. li chiama „final celles" poiché appariscono abbondantemente quando lo sviluppo é cessato.

Gruppo II° *b*: Si distingue dal precedente per l'assenza di micelio aereo, mentre ha in comune la formazione di micelio indiviso inizialmente e la fragmentazione. Alcuni di questi attinomiceti mostrano una tendenza ad un particolare sviluppo che l'A. chiama „sviluppo angolare" ed identico a quello descritto da Nocard per la *Nocardia farcinica* e da Kruse, Hill e altri per il *Bacillus diphteriae*. Questo sviluppo è un carattere costante nei singoli ceppi e presenta corrispondenze analogiche con quello dei *Myco-* e *Corynebacterium*.

Gruppo III°: A questo gruppo l'A. riferisce una sola specie, la *Streptothrix chalceae*, specie assai discussa nella letteratura medica micologica, e fonda il nuovo genere: *Micromonospora*. Esso é caratterizzato dalla presenza di un micelio delicato, unicellulare e ramificato, alla estremità delle cui ife si formano spore isolate ed ovali. Circa i riferimenti sistematici e nomenclatoriali fatti dall'A., oltre la creazione del termine *Micromonospora*, diremo nella seconda parte.

Un preciso riferimento con conseguente sviluppo alle vedute dell'Orskov, fa il Jensen (27) (1931—1933). Anche questo A. ripartisce gli attinomiceti in gruppi, i cui caratteri sono assai simili o del tutto simili a quelli esposti dall'Orskov; ma egli si addentra maggiormente nel problema sistematico. Riportiamo dallo stesso A. il seguente schema di classificazione:

Gruppo I. Spore formate nel micelio aereo
- A. micelio del sustrato indiviso
- B. micelio del sustrato che si divide per fragmentazione (spore di fragmentazione)

Gruppo II. Senza spore nel micelio aereo. Il micelio del sustrato si divide in elementi simili più o meno a batteri.

Un ulteriore gruppo é fatto per il g. *Micromonospora*, che l'A. accetta dall'Orskov, e di cui descrive altre specie.

Il gruppo I A., é identico, a detta dell'A., al gruppo I dell'Orskov; il gruppo I B., é di nuova interpretazione; il gruppo II comprende i due sottogruppi II A e II B dell'Orskov. Le caratteristiche sono in riassunto le seguenti:

Gruppo I A.: le spore del micelio aereo germinano con produzione di un filamento che si ramifica rapidamente e monopodialmente e sviluppa un micelio esteso con formazione di una colonia di caratteristica stabilità e di consistenza cartilaginea. Il micelio rimane non settato e aderente al sustrato. Dopo la formazione del micelio del sustrato, chiamato dall'A. anche micelio vegetativo, segue la formazione del micelio aereo, a contatto con l'aria e con ife costantemente più larghe e le cui estreme ramificazioni sono spesso a forma di più o meno regolari spirali. Queste ramificazioni terminali si dividono dopo un certo tempo basipetalmente in elementi di grandezza regolare o „spore". L'A. non si pronuncia sulla formazione dei setti prima della divisone dell'ifa. Egli accetta la definizione di spora del senso datole dall'Orskov. Secondo l'A. la grande maggioranza degli attinomiceti del terreno appartiene a questo gruppo.

Gruppo I B. Somiglia al precedente per la formazione del micelio aereo e per le spore, ma differisce per un caratteristico processo di divisione del micelio vegetativo che origina corpi di apparenza variabile ma spesso simili alle spore del micelio aereo. Il fenomeno non é costante, i corpi originati possono apparire come tratti lineari alternati con pieni e vuoti, oppure in forma difteroide o coccoide o addirittura simili ai corpi che Lieske (32) chiama „Vierhyphensporen" [1]). L'A. interpreta questi fatti in relazione alla discussa e vecchia questione delle oidio-spore o spore di fragmentazione degli attinomiceti. Noi abbiamo già esposto l'argomento a proposito del riferimento agli attinomiceti, di funghi del g. *Malbranchea* in altro lavoro (6) al quale rimandiamo. Tre specie sono riferite dallo Jensen a questo gruppo, ma di esse non é data la designazione specifica.

Ambedue i gruppi I A. e I B. hanno in comune le seguenti caratteristiche: liquefazione della gelatina, azione sull'amido, produzione di un pigmento bruno in sustrati con proteina, e nero su patata; nessuna decomposizione della cellulosa.

Gruppo II. Gli attinomiceti che fanno parte di questo gruppo formano all'inizio un micelio più o meno esteso che prima o poi si divide in segmenti di forma e di misura variabili, rassomiglianti ai mico- e corine-batteri; il processo di divisione arriva sino a produrre elementi simili a cocci, i quali successivamente sviluppano in modo caratteristico

---

[1]) Corpi simili sono stati descritti da J. B. Thomas (Mededeel. Phyt. Lab. Baarn, XXII, 1934) per l'*Act. maculatus* Millard, che ha pure tutte le caratteristiche del gruppo I A. dell'Jensen.

e che l'Orskov ha chiamato sviluppo angolare. Generalmente si forma micelio aereo nelle forme iniziali di crescita e le ife sono più corte, più semplici e meno ramificate di quelle del gruppo I e non formano mai spirali. Come caratteristica differenziale fra gruppo I e gruppo II è indicata l'assenza di spore nel micelio aereo di quest'ultimo. Il Jensen critica la suddivisione in due sottogruppi fatta dall'Orskov e che egli ritiene non molto profonda. Caratteri biochimici del gruppo sono: non liquefazione della gelatina, non idrolisi dell'amido, non decomposizione della cellulosa, non formazione di pigmento bruno o nero. Alcuni idrolizzano la paraffina, altri sono acido-resistenti. Questo gruppo é più eterogeneo del precedente e d'accordo con l'Orskov, l'A. ritiene di dovervi comprendere molte specie già riferite ai Mico- e Corine-batteri. Egli tuttavia é dell'opinione che possa esistere una differenza fra il secondo gruppo e i Mico- e Corine-batteri nel senso che in questi ultimi mancherebbe la formazione del micelio iniziale intero, che é costante nel gruppo II. L'A. battezza questo gruppo con il nuovo termine *Proactinomyces* e vi include numerose specie descritte in due lavori (27) e molte forme più o meno imperfettamente descritte della letteratura attinomicotica dell'uomo e degli animali.

Infine il gruppo che il Jensen accetta dall'Orskov con il termine *Micromonospora* é validamente studiato in due contribuzioni (28) con numerosi ceppi isolati dal terreno e ripartiti in 4 specie. La caratteristiche di questo gruppo sono: Il micelio vegetativo é composto di ife lunghe, delicate e ramificate. La formazione delle spore rassomiglia la produzione di ectoconidi nei batteri: dalle ife principali germogliano rami laterali corti, ciascuno dei quali termina con una spora singola, ovale o sferica, fortemente rifrattiva, e colorabile facilmente con colori di anilina e di ematossilina. Le spore e il micelio sono Gram-positivi, ma non acido-resistenti. Le spore sono molto più resistenti al calore delle ife vegetative. I microrganismi sono aerobi, mesofilici. Le attività proteolitiche e diastasiche sono molto deboli; alcuni ceppi decompongono la cellulosa; non fissano azoto libero e alcuni riducono i nitrati in nitriti. Si riscontrano in numero considerevole nel terreno: per il 5—8% sul totale di colonie di attinomiceti. Ma il loro ritrovamento può essere aumentato con l'aggiunta di cellulosa e di lignina al terreno.

E' noto che una prima distinzione fra gli attinomiceti fu fatta in base al carattere di aerobiosi e anaerobiosi (cfr. Pinoy, 43). Molti AA. tuttavia non accettarono questa suddivisione, ritenendo trattarsi di adattamenti colturali, che non potevano essere presi in considerazione per la sistematica. Così l'Orskov, per stare agli AA. ricordati, non si pronuncia sulla necessità di distinguere in un gruppo a parte gli attinomiceti sviluppanti in condizioni di anaerobiosi ed include un ceppo di questi nel gruppo II. Il Jensen pur considerando la questione „sub iudice" é dell'opinione di ritenere che gli attinomiceti anaerobi patogeni ad ife corte, possono essere inclusi gruppo I o nel nel gruppo II, secondo i casi.

Il Sampietro (52) distingueva questi germi in tre raggruppamenti: 1° tipo Levy, anaerobio assoluto; 2° tipo Wolf-Israel, preferibilmente anaerobio; 3° tipo Hayo Bruns, preferibilmente aerobio.

Al contrario Lignières (33) riunisce in un genere a sé (*Brevistreptothrix*) le specie anaerobie a filamenti corti la cui somiglianza morfologica con il gruppo II*a* dell'Orskov, é già stata rilevata da Ciferri e Redaelli (15). Il Negroni (40) studiando, nel 1934, sette ceppi di attinomiceti anaerobi, era dell'opinione di riferirli al gruppo II dell'Jensen (*Proactinomyces*) e crea a tale proposito la combinazione *Proact. Israeli* (Kruse). Questa opinione non é tuttavia mantenuta in un successivo lavoro del 1937, nel quale é accettata invece la denominazione generica di *Actinomyces*, mentre dallo studio é evidente l'iden-

tità morfologica con i ceppi descritti dall'Orskov e dall'Jensen rispettivamente, nel gruppo II.

Puntoni (47) espose in riassunto le sue idee nelle già ricordata relazione, coincidenti in parte con quelle degli AA. ricordati. Egli distinse tre tipi di attinomiceti:

tipo I: aerobio, a filamenti vegetativi molto lunghi e ramificati, con differenziamento di un micelio aereo, a spese del quale ha luogo una fruttificazione per artroconidi (actinospore di Puntoni).

tipo 2: aerobio a filamenti corti e poco ramificati senza differenziamento di micelio aereo fruttifero e con caratteri pseudo-tubercolari.

tipo 3: anaerobio, a morfologia batteroide, anzi corinebatterica. Dall'illustrazione e dai criteri morfo-colturali esposti dall'A. anche in precedenti lavori (46, 49), risulta assai chiaramente l'identità del tipo I con il gruppo I dell'Orskov e I A. dell'Jensen; del tipo 2 con il gruppo II*a*. e *b*. dell'Orskov e II dell'Jensen. Quanto al tipo 3, a cui riferisce gli attinomiceti anaerobi, egli é dell'opinione di farne un genere a sé. Nella 2° parte vedremo le interessanti opinioni di questo A. sulla nomenclatura dei vari tipi distinti.

Prima di chiudere questa rassegna dobbiamo ricordare altri AA. che pur non avendo separato così rigidamente e distintamente gli attinomiceti studiati, hanno valorosamente contribuito alla loro conoscenza e allo studio della loro biologia. Quasi tutti i ceppi studiati da Rossi-Doria (51), da Gasperini (21—22), da Krainski (31), da Waksmann e Curtis (57), da Millard e Burr (35), da Duché (19) sono da riferire al gruppo I dell'Orskov e I A. dell'Jensen; questi lavori portano anzi un decisivo contributo per quanto riguarda la nostra conoscenza di questo gruppo. Minore é il contributo da essi dato per la conoscenza e la identificazione delle singole specie, come é stato già da noi (3, 4) rilevato in occasione del VI Congresso di Microbiologia, a causa dell'eccessiva specificazione e della non corrispondenza fra i ceppi studiati e i nomi di etichetta.

Una particolare menzione merita lo studio del Wollenweber (60) il quale si accorse egli pure della diversità morfologica dei ceppi in studio, particolarmente in rapporto alla mancanza, in taluni di essi, di una sporificazione. I ceppi che sporificavano erano riuniti dall'A., in una sezione detta „*Aërothrix*" e che possiamo far corrispondere per i suoi caratteri al gruppo I gia più volte citato; mentre i ceppi non sporificanti erano riuniti in una sezione detta „*Pionnothrix*" e nella quale prevalgono gli attinomiceti patogeni per gli animali. E' evidente dal contesto che questa sezione corrisponde al gruppo II degli AA. già citati. Non siamo invece d'accordo con l'A. circa le affinità sia pure superficiali che egli fa con i *Fusarium*.

Un preciso seppure non sempre accettato e ricordato contributo alla morfologia degli attinomiceti, che noi comprendiamo nel gruppo I dei ricordati AA., fu fatto dal Drechsler (18). Non ci risultano invece, oltre i lavori ricordati e il nostro (1), altri in merito alla morfologia del gruppo II (Orskov e Jensen). E' evidente però che alcune specie appartenenti a questo gruppo si trovano confuse con quelle descritte dai citati AA. Parimente non ci risultano, ad eccezione di contributi prevalentemente medici, ricerche estese sulla morfologia dei ceppi anaerobi e di quelli riferiti a *Micromonospora*. Noi non possiamo, per evidenti ragioni di spazio, attardarci all'esame di questi contributi di cui sarà detto più particolarmente della parte 4°. Così pure tralasciamo di illustrare e discutere tutte quelle classificazioni che si basano sull'accettazione di un unico genere (*Actinomyces* o *Nocardia*) come fanno vari trattatisti [Castellani (12), Brumpt (10), Chalmers et Cristopherson (14), Dodge (17), ecc.], ritenendo oramai vano insistere

sulla inutilità di un simile atteggiamento. Merita un cenno particolare il Lieske (32); sebbene questo A. abbia accettato una unica terminologia e non si sia pronunciato sulla sistematica degli attinomiceti, la numerosa raccolta di dati morfologici e biologici, potrà essere maggiormente valorizzata, una volta che le ricerche condotte con criteri sistematici abbiano approdato ad un ordinamento dei gruppi in generi ben classificati. Lo stesso A. aveva del resto già osservato che dagli attinomiceti si dipartono due forme o linee diverse e raccordabili da una parte con i Mico- e Corine-batteri, e dall'altra con alcuni stipiti del g. *Oidium*, nel senso oggi più corretto di *Geotrichum*. Mentre concordiamo per la prima parte, dobbiamo fare per la seconda parte alcune riserve, in rapporto a quanto abbiamo già avuto occasione di scrivere a proposito delle specie di *Malbranchea* (6). Se cioé si ammette, come é logico, che tutte le tallospore, (artrospore, blastospore e forme miste) sono tra le più primitive forme di moltiplicazione, se ne può dedurre che i veri Artrosporei, tipificati in *Geotrichum*, hanno una modalità di moltiplicazione analoga a quella degli attinomiceti compresi nel gruppo I, illustrato precedentemente. Ciò, non può avere per il momento altro significato che la primitività di questi microrganismi, e facendo astrazione dall' assenza di un nucleo ben differenziato, che separa profondamente tutti gli *Actinomycetales* dai funghi più evoluti e la morfologia del micelio di questi da quello degli attinomiceti.

La nomenclatura degli Attinomiceti

Dalla eterogeneità morfologica e colturale degli attinomiceti, come risulta dalla esposizione della parte 1°, nasce logicamente il problema della ripartizione dei vari gruppi in ranghi sistematici e della loro denominazione. E' forse superfluo rilevare che le diversità osservate impongono la costituzione di generi diversi, salvo eccezioni che vedremo in seguito; mentre i raggruppamenti di rango superiore saranno discussi nella parte 3°. Sulla opportunità della ripartizione degli attinomiceti in generi diversi furono già fatte da Puntoni (47) alcune osservazioni.

Riteniamo inutile una nuova discussione sulla priorità e validità di alcuni termini come sulla invalidità di altri (*Streptothrix*, *Nocardia*, *Oospora*, ecc.) molte essendo oramai le esposizione e le critiche fatte in proposito. Preferiamo invece avviare il problema verso la sua conclusione e pertanto di esaminare senz'altro a quale dei gruppi precedentemente illustrati, spetti la denominazione di „*Actinomyces*". Sono note le origine e le vicende di questa nomenclatura; qui ricapitoliamo brevemente le conclusioni alle quali giunsero recentemente per via indipendente Puntoni (46) e Baldacci (4).

Harz (25), creatore della terminologia *Actinomyces bovis* non coltivò il microrganismo da lui diagnosticato solo per i caratteri isto-patologici. Ne risultò che é materialmente impossibile stabilire di quale specie potesse trattarsi, dato il numero piuttosto notevole di specie successivamente isolate e coltivate da casi analoghi o simili a quello dell'Harz e con gli stessi caratteri patologici, e dato che il criterio della „specificità patologica" non ha più ragione di sussistere, come dimostrarono tra gli altri Sampietro (52) e Puntoni (47). A questa difficoltà di assegnazione e di precisazione si può porre riparo seguendo tre criteri distinti.

1°) attribuire la nomenclatura di *Actinomyces* a quel gruppo nel quale deve essere inclusa la prima coltura in ordine di tempo, dopo la designazione fatta dall'Harz.

2°) attribuire la nomenclatura generica di *Actinomyces* al gruppo, le cui specie appaiono più frequenti negli isolamenti di attinomicosi animali ed umane, in relazione al primo reperto dell'Harz. Criterio seguito come é noto dal Wright (62) e poi dal Buchanan (11) e in prevalenza da alcuni AA. americani.

3°) accogliere l'attribuzione convalidata oramai dall'uso e da un predominante accordo fra i micologi, che riferisce il termine *Actinomyces* alle specie con le caratteristiche del gruppo I A di Jensen e I di Orskov.

Il primo criterio, a parte l'arbitrarietà della decisione, non offre una facile soluzione, a causa della abbondante letteratura e la incertezza di avere a che fare veramente con la prima coltura. Stando a quanto ci hanno permesso le indagini bibliografiche, il primo annuncio sulla coltivabilità degli attinomiceti é fatto da O. Israel (26). Ma si noti che si trata solo di una nota preliminare dalla quale é molto difficile stabilire le caratteristiche morfologiche del germe e dalla quale non sembrerebbe che la coltura dovrebbe considerarsi affine a quella effettuata e descritta più tardi da Wolf M. e Israel J. (59). La nota di O. Israel, (che ricevette il materiale dall'J. Israel) é del 1884; l'anno appresso il Boström (9) annunciava di essere riuscito a coltivare l'attinomicete di cui dava ampie e dettagliate caratteristiche in un successivo lavoro. Grazie ad un ritrovamento tutto recente, si é potuto da parte nostra [Baldacci (1)] stabilire con precisione la struttura morfologica e colturale di questo attinomicete, che deve essere incluso nel gruppo I (ricordato nella prima parte). Come si vede l'accettazione del criterio al n° 1, porta ad una difficile discriminazione sulla accettazione o non della nota di O. Israel nella quale non risultano precisate le caratteristiche in maniera soddisfacente, come in quella di Bostroem, e ad un diverso riferimento del termine generico in discussione. Le colture successive a quelle di O. Israel e di Bostroem sono molte, ma non ci interessano più a questo proposito. [cfr. Gasperini (21)].

Il criterio di cui al n° 2, é stato come si é detto accettato da alcuni AA., ma esso é stato già spesso criticato [cfr. Ciferri e Redaelli (15)] sopratutto in base al fatto che si verrebbe così a capovolgere completamente gli attuali significati dei termini generici. Difatti, in base a detto criterio, spetterebbe la nomenclatura *Actinomyces* alle forme anaerobie e asporigene. Oltre l'obbiezione già citata, dobbiamo aggiungere che non si é ancora d'accordo, come si é illustrato nella parte I°, se queste specie debbano essere incluse nel gruppo II (Orskov e Jensen) o se debbano costituire un gruppo a sé stante. In questa maniera l'accettazione della terminologia non potrebbe essere definitiva e rimarebbe ancora „sub iudice" in attesa che precise esperienze, fatte con questo intento, diano una risposta al problema.

Per tutte queste ragioni e per il fatto che ormai l'uso, specialmente dopo i lavori di Gasperini (21, 22), ha fatto sì che col termine *Actinomyces* vengano indicate le specie corrispondenti ai caratteri del gruppo I, noi riteniamo di attribuire a questo tale nomenclatura. L'adesione data in precedenza a questa soluzione da parte di studiosi micologi e microbiologi, facilita la conferma di questa nostra conclusione; difatti così facendo noi non seguiamo che la dizione già usata per tutte queste specie da Gasperini (21) già ricordato, Krainsky (31) Waksman (56—57), dal manuale del Bergey e AA. (7), e più recentemente da Millard e Burr (35), Wollenweber (60), Jensen (28), Puntoni (46) e Duché (19) ecc. Come si vede, la grande prevalenza di studiosi ha accettato in lavori fondamentali, il termine *Actinomyces* con caratteristiche che per la quasi totalità delle specie descritte sono quelle del gruppo I A. e B. di Jensen e I di Orskov; non v'é chi non veda il grande vantaggio sistematico di una definitiva e chiara accettazione in tal senso. Fra le specie che debbono essere escluse ricordiamo l'*Act. asteroides* già

da noi studiato (1) e poche altre di isolamento antico da casi umani e che debbono essere ristudiate con i nuovi criteri.

Fa eccezione a questo soluzione, oltre il Wright e il Buchanan, l'Orskov (42) il quale chiama il suo gruppo I con il nome di *Cohnistreptothrix*. Ma questa designazione é stata già criticata da Ciferri e Redaelli (15), facendo osservare che „é molto difficile sovrapporre o innestare la sistematica dell'Orskov a quella o a quelle comunemente adottate, e si direbbe che contro la stessa difficoltà ha dovuto urtare l'A., se così poco insiste su questa parte. Devesi ciò a più fattori, ma principalmente al fatto che i ceppi da lui studiati o furono ceppi anonimi provenienti da diverse collezioni, o isolati da lui stesso, o colture il cui nome di etichetta non corrispondeva o non poteva sicuramente identificarsi col ceppo stesso." e di cui l'A., aggiungiamo, non si é volutamente dato cura di stabilire l'esatta identità. Se noi rimoviamo tali difficoltà si vedrà che non sarà difficile accordare le caratteristiche dei gruppi dell'Orskov alla nuova sistematica; solo potranno restare in discussione alcune specie non ben definite. D'altro canto la designazione fatta dall'Orskov (come osservano Ciferri e Redaelli) non indica se si tratta della *Cohnistreptothrix* sensu Pinoy o di una omonimia involontaria". In ogni caso l'identificazione non é ammissibile e il nome, nel senso dell'Orskov, deve essere rigettato."

Attribuiamo dunque il termine „Actinomyces" a tutte le specie i cui caratteri corrispondono a quelli illustrati nel gruppo I (a e b) *di* Jensen *e di* Orskov, corrispondenti al tipo I del Puntoni. Resta così libera la via per l'assegnazione dei nomi agli altri gruppi.

Il gruppo II di Jensen, identificato con il gruppo II A. e B. di Orskov, é stato designato dall'A. medesimo con il termine *Proactinomyces*. Sembrerebbe non esservi difficoltà per la sua accettazione e validità, poiché la terminologia precendentemente usata dall'Orskov (*Actinomyces*) risulta oramai diversamente attribuita, e quella suggerita da Puntoni (47) per il tipo 2°, che come si é detto si identifica con esso, é accolta in sinonimia essendo posteriore [cfr. Baldacci (1) e lo stesso Puntoni in discussione della prima seduta del VI° Congr. Naz. Ital. Microb. p. 105].

Ma la validità di questa nomenclatura é sottoposta ad un altro quesito, a cui si é accennato nella prima parte, e cioé l'appartenenza o no ad esso dei cosidetti attinomiceti anaerobi. Si comprende difatti facilmente che qualora si considerino appartenenti allo stesso genere queste ultime specie e quelle studiate da Jensen e Orskov nel gruppo II, la terminologia valida é quella più anziana e cioé quella che si attribuisce solitamente agli anaerobi. E' necessario pertanto prima di poter concludere in un senso o nell'altro, studiare anche questo lato del problema. Anche a questo proposito non rifaremo l'esposizione cronologica delle vicende nomenclatoriali già note e riassunte da varii AA. [cfr. Buchanan (11) e Ciferri e Redaelli (15)], ma ci atterremo a quelle che sono le linee principali della intricata questione.

Lignières e Spitz (34) rilevarono per primi che nel genere *Cohnistreptothrix* Pinoy, (43) così come é inteso dal creatore, non può rientrare la specie di Wolf e Israel, la quale invece era compresa come specie tipo di un nuovo genere *Brevistreptothrix* e a cui era riferito anche la *B. Spitzi* di nuova creazione. Le ragioni di questa scissione sono date dagli AA. nella brevità delle ife miceliche che si riscontrano nelle colture di queste specie (i cosidetti anaerobi ad ife corte). Ma il genere *Brevistreptothrix* replica, come fecero rilevare Ciferri e Redaelli (15), il genere *Actinobacterium* Haass che questo A. aveva fondato per due ceppi rimasti senza terminologia specifica (24). Quindi il genere era rimasto invalidato fino al 1908, allorchè il Sampietro (52) vi assegnò la specie di Wolf e Israel facendo la combinazione *Actinobacterium Israeli* e la varietà: *Actin. Israeli* var. *Spitzi* Sampietro (= *Brevistr. Spitzi*). Il risultato é che allo stato attuale si hanno

due generi distinti: *Actinobacterium* (Haass) Sampietro (= *Brevistreptothrix* Lignières) e *Cohnistreptothrix* Pinoy per due tipi di attinomiceti a carattere anaerobio o microaerofilo e differenziati dalla presenza di ife corte, non ramificate o scarsamente ramificate e solo eccezzionalmente, non fragmentantisi in *Actinobacterium* e dalla presenza di ife lunghe abbondanti e ramificate e fragmentantisi in elementi cocciformi o batteroidi in *Cohnistreptothrix*.

E' evidente che vi é nella quistione un duplice aspetto, quello delle differenze morfologiche affermate da sperimentatori illustri e quello della ripartizione in ranghi sistematici. In altre parole ammesse le differenze suddette, si deve loro attribuite un tale valore fino a ripartire le specie su due generi diversi? Puntoni (47) riaffermando recentemente la priorità di *Actinobacterium*, che era del resto stato accettato da Ciferri e Redaelli (15) e da Nannizzi (39), propende a riunire in esso tutte le specie suddette, accettando la sinonimia fra *Actinobacterium* e *Cohnistreptothrix*. A nostro parere questa risoluzione é ancora prematura; difatti lo spoglio bibliografico di per sé stesso, non é sufficiente per risolvere il problema in un senso o nell'altro e finora non sono state condotte ricerche in esteso, con un numero grande di ceppi riferiti ai generi e alle specie in discussione, dall'esito delle quali si possa stabilire alcuni dati concreti. Tali ricerche si rendono necessarie e l'additarle quì ci fa sperare che altri studiosi vi si dedicheranno, oltre quanto sarà possibilmente fatto da noi medesimi.

I rapporti fra gli attinomiceti anaerobi con quelli del gruppo II (G. *Proactinomyces*) sono stati discussi brevemente dal Jensen. Tuttavia anche l'Orskov vi ha portato un contributo diretto, studiando un ceppo anaerobio, sotto il nome *Actinomyces hominis*, e che egli ritiene appartenere al suo gruppo II b. Sebbene non dichiarato esplicitamente, secondo l'A. questo ceppo dovrebbe identificarsi con la specie di Wolf e Israel. Il Jensen (27) richiamandosi a questi due ceppi e a quelli di altri AA., conclude che gli attinomiceti anaerobi ad ife corte possono appartenere al gruppo II e al gruppo I e non é alieno dall'ammettere una trasformazione in tal senso. Ci sembra che su questo punto non si possa seguire l'A., anche perché mancano ancora prove sperimentali complete, l'unica ricerca del genere essendo quella della Morelli (36). La ricerca di questa A. é rimasta isolata e Puntoni riferiva al VI Congr. Naz. Ital. Micr. (p: 106) che in ricerche di controllo, effettuate dal Prof. Sabbatucci, non fu possibile ottenere degli adattamenti e non si poté mai osservare il cambiamento dei caratteri. Il recente studio di Negroni e Bonfiglioli (41) illustrato anche nella parte prima, non ci aiuta a risolvere la questione. Come si é detto l'A. riferisce in un primo lavoro (40) i ceppi anaerobi studiati al gruppo II del Jensen, facendo appunto la combinazione *Proactinomyces Israeli* (Kruse) Negroni 1934; mentre nel successivo (1937) accetta senza discussione la terminologia *Actinomyces Israeli*. Tuttavia dallo studio, non poche sono le analogie morfologiche con il g. *Proactinomyces*.

Dalla nostra esposizione ci sembra abbastanza evidente come l'intricata questione della ripartizione in generi di tutti questi microrganismi non possa essere risolta senza uno studio sperimentale indirizzato a questo scopo. Per il momento riteniamo sufficiente, aver delimitato e precisato i termini stessi della questione. Ciò posto *la conclusione naturale che ci si presenta è il mantenimento „ad interim" di tutti e tre i generi discussi e cioè: Proactinomyces, Actinobacterium*, e *Cohnistreptothrix*. Questa soluzione, che ci sembra legittima mancando prove, in pro o in contro, di un loro diverso raggruppamento, evita nuove modificazioni che non potrebbero essere definitive, senza per altro sancire l'uso di questi termini che per un periodo di tempo relativo fino cioé al completamento del loro studio. Altri fatti ci confortano in questa decisione. Abbiamo già detto come i generi

Mycobacterium e *Corynebacterium* abbiano delle notevoli affinità con *Proactinomyces* e come sia necessario uno studio comparativo delle specie appartenenti a questi tre generi; inoltre recentemente Puntoni (48) illustrava le affinità che legano il *Bacillus bifidus* ad *Actinobacterium* confermandone in via definitiva il passaggio a questo genere, come era stato suggerito da Vuillemin (55) e accettato da Nannizzi (39). Tutto ciò dimostra la complessità del problema e la vastità delle specie che confluiscono in questi generi assai affini fra loro e dimostra che una loro riunione in un genere o pochi generi sarebbe al momento prematura, confondendo solo le nomenclature e non chiarendo affatto l'argomento. Per quanto riguarda poi il valore tassonomico del carattere di anaerobiosi, rimandiamo alle considerazioni svolte da Redaelli (50) in occasione del Congresso più volte ricordato. Noi concordiamo con questo A. sull'opportunità di mantenere questo carattere come distintivo ai fini sistematici. Se poi esso debba o possa essere limitato per la differenziazione di specie, piuttosto di generi, é questione che non può essere risolta in sola sede teorica ma volta a volta nei singoli casi tenuti presenti tutti o gran parte degli altri caratteri del microrganismo.

Non vi sono difficoltà ad accettare interamente il gruppo III dell'Orskov, specialmente dopo l'attenta revisione fatta dall'Jensen (28), e a contraddistinguerlo con il termine generico di *Micromonospora*. Parimenti sono accettati tutti i rimanenti generi dell'ordine degli *Actinomycetales*, e che non sono stati oggetto di discussione in questa parte. Nella seguente tracceremo una nuova classificazione di questo ordine, raggruppando in ranghi superiori i vari generi studiati.

Saggio di una nuova classificazione dell'ordine degli Actinomycetales

La delimitazione dei generi come é stata esposta nelle precedenti parti non é evidentemente sufficiente per lo studio del vasto argomento. In particolare due problemi sussistono al lato di questa ripartizione; e cioé la studio delle singole specie appartenenti all'uno piuttosto che all'altro genere, che é insieme premessa e conseguenza della ripartizione fatta, e la distribuzione dei generi creati in unità di rango superiore.

Studiamo in questa parte quest'ultimo punto, rimandando alla parte quarta la questione delle specie, che, come vedremo, richiederà una completa impostazione dell'argomento e una totale revisione della nostra vasta bibliografia.

La classificazione di Vuillemin (55), seguita anche recentemente da alcuni AA., comprende gli attinomiceti nella famiglia delle „*Microsiphoneae*", suddivisa a sua volta in due tribù: *Nocardieae* e *Mycobacterieae* o *Sclerotricheae*. Mentre in un primo lavoro di questo A. é rimarcata la necessità di comprendere questa famiglia in un ordine parallelo agli Hyphomyceti (54), nel volume del 1931 la famiglia stessa é inclusa nell'ordine degli Arthrosporei (p. 283) [1]). La mancata dimostrazione della esistenza di un nucleo negli attinomiceti rende inaccettabile il riferimento agli artrosporei (vedi pag. 94) mentre la presenza di un microsifone non é affatto dimostrata. Le osservazioni che tendevano a dimostrare questo presunto sifone sono riferibili ad un fenomeno diverso. L'apparire nelle ife di coltura, specialmente se vecchie, di tratti a pieni e vuoti, lasciava supporre la formazione di „spore" endogene al filamento ed uscenti dall'apice o dalla estremità. Gli studi sulla morfologia degli attinomiceti riferiti nella prima parte e quelli

[1]) La dizione *Microsiphonales* usata da molti AA. (Puntoni etc.) non si riscontra in questi lavori di Vuillemin.

di Drechsler (18) sul g. *Actinomyces*, escludono oramai siffatta interpretazione. [crf. Baldacci e AA. a proposito di *Malbranchea* (6)].

Molto più opportuna é la riuniune degli attinomiceti agli Schizomiceti, fatta principalmente ad opera del Comitato dei Batteriologi americani [Bergey e AA. (7)] e di cui essi costituiscono l'ordine secondo, con il termine *Actinomycetales* Buchanan 1918. Esso comprende due famiglie: *Actinomycetaceae* Buchanan 1918 e *Mycobacteriaceae* Chester 1901. Se la riunione agli Schizomiceti é giustificata dalla mancanza di nucleo e dall' aspetto bacillare di molte forme di questi microrganismi, d'altro canto le caratteristiche morfo-colturali di certi generi, come *Actinomyces* (nel senso da noi precisato) mostrano affinità con gli ifomiceti nella modalità della sporificazione, nell' aspetto delle colture. Le nozioni illustrate nelle parti precedenti giustificano, a nostro avviso, la necessità di un emendamento della classificazione suddetta, nella forma e con i criteri che veniamo ad esporre.

Ordine Actinomycetales Buchanan 1918

Famiglia: *Mycobacteriaceae* Chester emend. E. Baldacci

non formano mai spore o conidi, ma elementi corti a bastoncino o coccoidi; filamentose nelle forme più evolute e talora con due miceli indifferenziati. Prevalentemente parassitiche nell'uomo e negli animali, meno spesso saprofitiche (terreno)

Sottofamiglia: *Leptotrichioideae* E. Baldacci

forme batteroidi con scarsi filamenti o solo accenni a forme filamentose ramificate.

I. con rara od occasionale presenza di ife miceliche. Gramnegativi.
   - *a*) cellule fusiformi . . . . . FUSIFORMIS
   - *b*) cellule a forme di bacillo, coccobacillo e diplococco, talora di streptobacillo . . ACTINOBACILLUS
   - *c*) cellule a bastoncino talora filamentose con accenni a ramificare . . . . . PFEIFFERELLA [1])

II. con facile presenza di ife miceliche. Grampositivi.
   - *a*) filamenti a forma di bastoncelli che tendono a formare lunghe ife miceliche talora ramificate; ispessite e granulose . . . . . ERYSIPELOTHRIX
   - *b*) filamenti spessi non ramificati, talora granulosi o settati, che si fragmentano in corti bastoncelli . . . . . LEPTOTRICHIA

Sottofamiglia: *Proactinomycoideae* E. Baldacci

forme prevalentemente filamentose, nelle quali si verifica una fragmentazione delle ife, più o meno sollecitamente.

I. filamenti iniziali corti a forma di V, Y e X (sviluppo angolare), che si fragmentano subito in elementi batteroidi.
   - *a*) acido resistenti . . . . . MYCOBACTERIUM
   - *b*) non acido resistenti . . . . . CORYNEBACTERIUM

II. filamenti iniziali come il precedente ma che restano interi con formazione di ife più o meno abbondanti; talora si forma un micelio aereo indifferenziato da quello vegetativo. La fragmentazione avviene in uno stadio più avanzato, quando la crescita diminuisce o si arresta.
   - *a*) forme strettamente anaerobie, di aspetto bacillare; con rare ife scarsamente ramificate . . . . . ACTINOBACTERIUM

[1]) Pribram (45) indica come termine piu anziano *Malleomyces* Hallier.

b) forme microaerofile, con filamenti ramificati abbondanti e talora con piccole masse scleroziali . . . . . COHNISTREPTOTHRIX
c) forme aerobie, con micelio ben sviluppato e talora distinto in micelio vegetativo e micelio aereo, quest'ultimo indifferenziato . . . . . PROACTINOMYCES

Famiglia: *Actinomycetaceae* Buchanan emend. E. Baldacci

forme producenti spore o conidi in un micelio aereo differenziato, di spessore maggiore di quello vegetativo e terminante in spirali o forme similari. Il micelio vegetativo resta quasi costantemente intero. Prevalentemente saprofitiche e solo talora parassitiche.

a) spore isolate e singole all'estremità delle ife . . . . . MICROMONOSPORA
b) spore plurime e seriate . . . . . ACTINOMYCES

Come risulta dall'esame della precedente chiave analitica, l'emendamento principale consiste in una più stretta definizione della famiglia delle *Actinomycetaceae* Buchanan, nella quale debbono essere riferiti solamente quegli attinomiceti producenti spore o conidi in coltura e la cui struttura morfologica é assai evoluta differenziandosi un micelio fertile o aereo da quello sterile o vegetativo o del sustrato. Anche il processo di formazione delle spore é più evoluto di una semplice fragmentazione compiendosi nelle linee generali secondo una artrosporulazione, che é tipica. Questa soluzione si presentava a nostro avviso indispensabile date le nostre conoscenze sulla morfologia degli attinomiceti, e può in certa qual maniera attenuare le divergenze fra coloro che sostengono essere gli attinomiceti funghi dell'ordine degli Hyphales e coloro che li pongono senz'altro fra i batteri. In realtà le forme di *Actinomyces* presentano delle modalità di transizione da l'uno all'altro dei due gruppi, come si é detto più sopra. Questa scissione più profonda fra le due famiglie *Actinomycetaceae* e *Mycobacteriaceae* ha il vantaggio di seguire più da vicino la diversità morfologica e colturale che si osserva fra le specie appartenenti alle due famiglie stesse, mentre la formazione di spore assume un valore differenziale opportuno e che non era stato giustamente posto in rilievo nella precedente classificazione del Bergey (7) [1]).

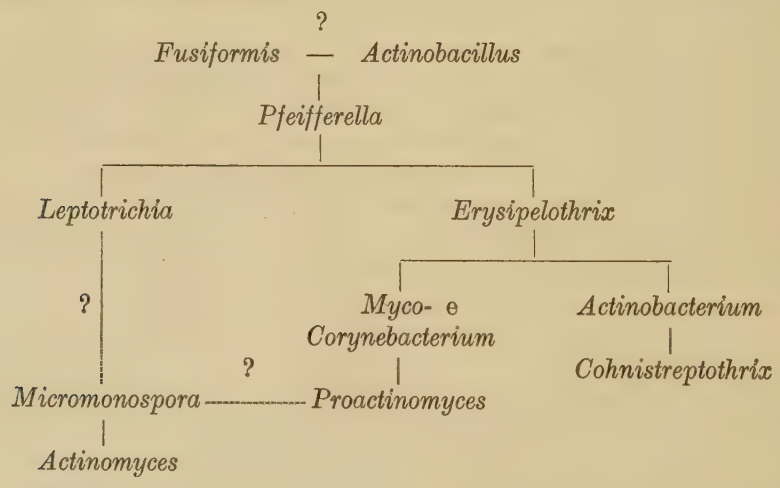
La famiglia delle *Mycobacteriaceae* viene ad arricchirsi eccessivamente di generi. Ma qualora si abbiano alla mente le riserve esposte precedentemente, si vedrà che non vi é in ciò una ragione di critica. Sia nell'intento di snellire la ripartizione dei generi, sia perché di fatto essi presentano differenze assai valutabili ed estese, abbiamo reputato utile suddividerla in due sottofamiglie. La prima, con il termine di *Leptotrichioideae* (da *Leptotrichia* che ne costituisce il genere più anziano e più evoluto in certo qual modo), é caratterizzata dalla mancanza o dalla rara presenza di forme filamentose che sono invece prevalenti nella seconda. Per quest'ultima si é scelto il termine *Proactino-*

[1]) Una separazione fra le forme sporificate e quelle non sporificate degli Actinomycetales, é già stata proposta da Pribram (45), senza per altro che da parte di questo A. si sia provveduto ad emendare le diagnosi delle due famiglie. Inoltre egli include come varietà delle specie di *Actinomyces*, le cosidette forme anaerobie (*A. Israeli*) le quali non producono spore. L'A. istituisce la sottoclasse Mycobacteria, divisa in due ordini; di cui il secondo, *Mycobacteriales* Pribram, raggruppa tutte le forme di *Actinomycetales* Buchanan ad eccezione di *Fusiformis* e *Leptotrichia*, e delle già ricordate forme anaerobie. Si hanno in più i generi *Distasoa*, e *Tisseria*, la cui specie *T. bifida* ha per altro la nota identità con *Actinobacterium*. Nel raggruppamento dei generi l'A. segue il criterio della reazione del Gram e della apparizione dei filamenti. Tuttavia non ci sembra opportuno contrapporre a *Malleomyces* (*Pfeifferella*) il g. *Corynebacterium*, il quale ha molte maggiori affinità con *Mycobacterium*. Nella famiglia Actinomycetaceae non é compresa *Micromonospora*, mentre sussiste il genere *Actinomycoides*, senza specie note o esattamente riferibili.

mycoideae, da *Proactinomyces*. E' interessante esporre l'origine di questo nome: esso fu attribuito dal Jensen, come si é detto, per le specie del suo gruppo II, ricavandolo dalla nomenclatura della famiglia *Proactinomycetaceae* che Lehmann e Neumann avevano creato nell'edizione 1927 del loro Bakteriologische Diagnostik e comprendente i due generi *Myco-* e *Corynebacterium*. Date le evidenti affinità che con questi generi avevano le specie del gruppo II, il Jensen creò la terminologia generica *Proactinomyces*. A questa tuttavia non si deve attribuire nessun significato filogenetico nei riguardi del genere *Actinomyces*. Con lo stesso significato abbiamo creato la sottofamiglia *Proactinomycoideae*, derivandola da questo genere che ne é la forma più evoluta. Anche per la sottofamiglia si deve escludere ogni interpretazione filogenetica ma solo un avvicinamento morfologico che risulta del resto assai palese. Per ragioni di priorità, noi non crediamo invece che si possa sostituire la dizione *Mycobacteriaceae* Chester 1901 con la dizione, pur recente di Lehmann e Neumann, *Proactinomycetaceae*, nell'indicazione della famiglia [1]).

Nella discriminazione delle due sottofamiglie da noi create, come nella chiave dei singoli generi, si é tenuto il criterio di passaggio dalle forme bacillari a quelle filamentose, criterio che permette seguire idealmente una evoluzione verso le forme meno evolute degli Eumycetes. In particolare si deve osservare come nella sottofamiglia *Proactinomycoideae* si siano riuniti tutti i cinque generi già discussi nella parte precedente, a proposito della loro nomenclatura e della riunione o meno in uno o pochi generi. (*Myco-* e *Corynebacterium*, *Actinobacterium*, *Cohnistreptothrix* e *Proactinomyces*). Naturalmente resta impregiudicato quanto abbiamo allora detto. Un eventuale raggruppamento di questi, oltre che portare ad alleggerimento della famiglia tutta, non altererà la differenziazione fra la prima e la seconda sottofamiglia.

Volendo graficamente rappresentare questi nostri concetti, tutti i generi della chiave analitica possono essere distribuiti come risulta dal seguente grafico, nel quale si intende rappresentare una linea evolutiva secondo le affinità morfologiche apparenti allo stato attuale, e non filogenetica.



[1]) Il Vuillemin (55) basandosi sul fatto che il termine *Sclerothrix* Metchnikoff 1888 ha la priorità su *Mycobacterium*, propone la dizione Sclerotricheae, invece di Mycobacteriaceae. Noi non sappiamo a quale lavoro si riferisce il Vuillemin ed abbiamo preferito mantenere il termine *Mycobacterium*, che é convalidato dall'uso, ed esprime assai bene l'aspetto morfologico dei microrganismi. (Cf. Raccomandazione III delle Reg. Int. di nomenclatura botanica).

Fig. 1.

Fig. 2.

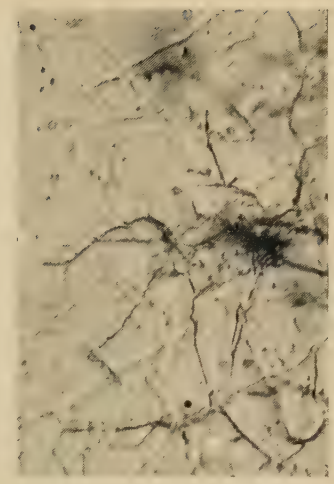


Fig. 3.

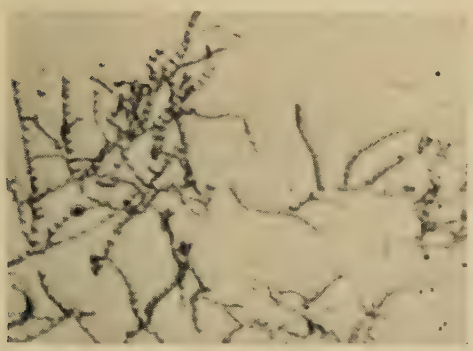


Fig. 4.

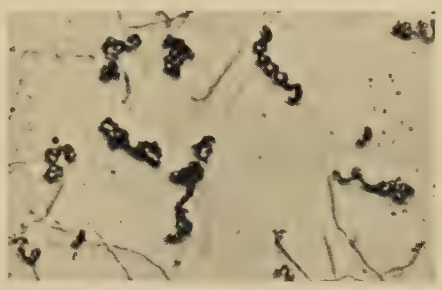


Fig. 5.

Fig. 1. Aspetti colturali delle specie del g. *Actinomyces*.
Fig. 2. Morfologia del g. *Actinomyces*. Fase iniziale delle sviluppo del micelio aereo.
Fig. 3. Apparizione del micelio aereo in *Actinomyces*. Il micelio vegetativo é più chiaro nel fondo.
Fig. 4. Sporificazione nel micelio aereo di *Actinomyces*.
Fig. 5. Caratteristiche spirali sporigene del micelio aereo di *Actinomyces*.

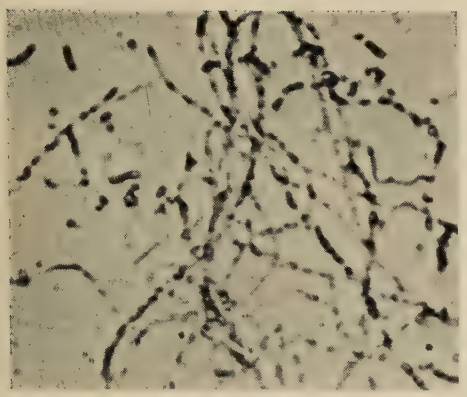


Fig. 1

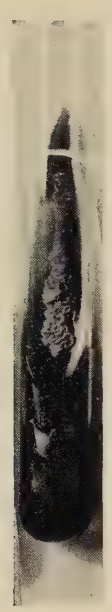


Fig. 2

Fig. 3.

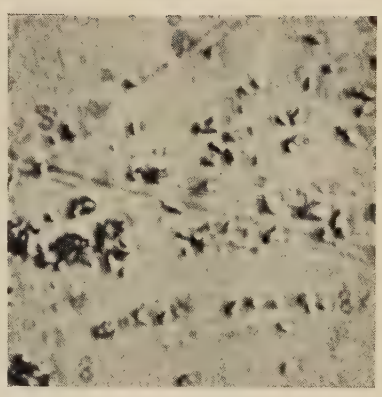
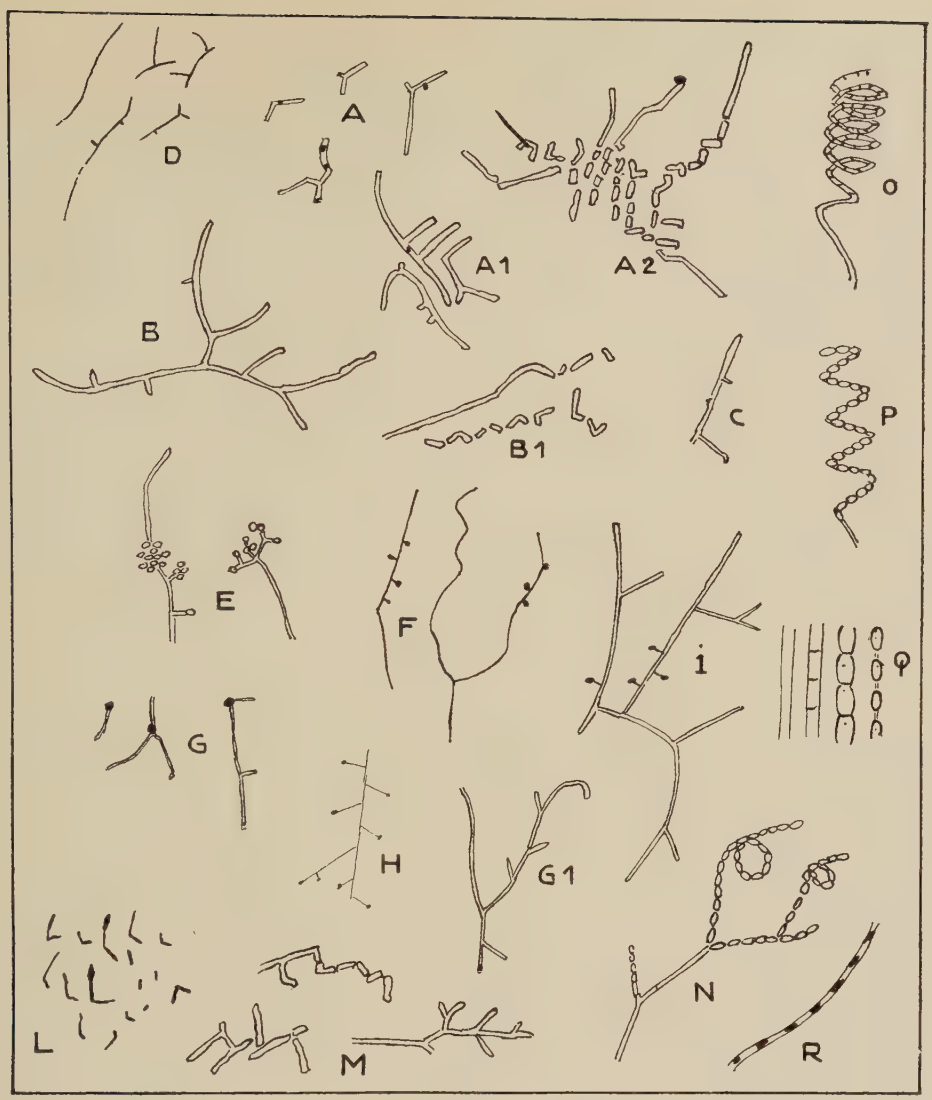


Fig. 4.

Fig. 1. Ife degenerate e simulanti una sporulazione.
Fig. 2. Aspetto colturale delle specie del g. *Proactinomyces*.
Fig. 3. Morfologia del g. *Proactinomyces*. Sviluppo iniziale con forme a V e Y del micelio vegetativo.
Fig. 4. Fase avanzata della fragmentazione del micelio in *Proactinomyces*.



A. fasi dello sviluppo di *Proactinomyces corallinus*, A_1. dopo 42 ore, A_2. dopo 3 giorni. I segni neri corrispondono al micelio aereo.
B. sviluppo di *Proactin. opacus* dopo 24 ore; B_1. dopo 6 giorni, in fase di frammentazione con forme a V.
C. sviluppo iniziale di *Proactin. crystallophagus.*
D. accrescimento angolare in *Proactin. agrestis.*
E. ammasso di spore di *Micromonospora.*
F. modalità di formazione delle spore in *Micromonospora.*
G. germinazione di spore di *Micromonospora.*
H. giovane micelio di 5 giorni di età in *Micromonospora* (schematico).
I. micelio di *Micromonospora* con formazione iniziale di spore.
L. elementi difteroidi di *Actinobacterium Israeli*, in pus.
M. accrescimento angolare e micelio con tendenza a ramificazione dicotomica in *Actinobacterium Israeli.*
N. micelio aereo sporificato di *Actinomyces.*
O. P. formazione delle spore in spirali del micelio aereo di *Actinomyces.*
Q. modalità della separazione delle spore nel micelio aereo di *Actinomyces.*
R. ife degenerate e simulanti una falsa sporificazione. Le macchie nere sono costituite da materiale metacromatico.

E' forse opportuno dire esplicitamente, sebbene risulti assai chiaramente dal testo, che noi riteniamo la classificazione qui illustrata più un punto di partenza che una chiosatura conclusiva. Se le nostre classificazioni rispecchiano, come accade, le nostre cognizioni sui viventi e non sono da considerare solo aridi schemi, é ben evidente che ulteriori sviluppi dovranno far seguito a quanto si é illustrato fino a qui. In particolare si deve rilevare come con lo schema presentato si siano diagnosticati tre raggruppamenti, in seno ai quali lo studio ulteriore darà migliori e più completi risultati e cioé:

1) la famiglia delle *Actinomycetaceae* ha acquistato una sua „facies" precisa, ma impone una attenta revisione di tutte le specie studiate e riferitevi fino ad oggi. (Vedi parte IV, pag. 101, fig. 1—5 della tavola XIII e le lettere N—R della tavola XV).

2) la sottofamiglia delle *Proactinomycoideae* raggruppa 5 generi facenti capo a *Proactinomyces* ,con una morfologia assai analoga o identica, ma necessita una revisione dei generi stessi, come si é detto più sopra (vedi parte IV; pag. 99 e fig. 2—4 della tavola XIV e lettere A—D della tavola XV).

3) la sottofamiglia delle *Leptotrichioideae* raggruppa le forme più strettamente affini o simili a quelle bacillari ma é necessario che siano precisati i suoi rapporti con gli altri ordini degli Schizomiceti oltre alla revisione di alcune specie assai incerte o scarsamente illustrate.

Nella parte che segue preciseremo meglio alcune di queste nostre idee, illustrando quanto é in corso di essere compiute o quanto deve essere fatto a questo proposito.

Gli Attinomiceti in rapporto alla patologia e alla microbiologia e il problema delle entita' specifiche

Definite, come si é visto, le linee generali e generiche della sistematica degli attinomiceti, é necessario soffermarci ad illustrare i rapporti che questi microrganismi hanno con la patologia generale (umana, animale e vegetale) dal punto di vista non solo tassonomico ma anche eziologico e con la microbiologia. A cominciare dai primi casi di attinomicosi umana e bovina anteriori al battesimo dell'Harz, fino alle prime colture, e da queste successivamente fino ai nostri giorni, la letteratura medica micologica é tale da sgomentare anche il migliore bibliografo. Per contro una revisione delle specie descritte più o meno approssimativamente, con terminologie non sempre giuste e spesso errate, si impone a chi voglia inoltrarsi nello studio di questi microrganismi. Né tale revisione si propone scopi puramente sistematici, come può sembrare a prima vista, ma si rende necessaria anche ai fini diagnostici e eziologici della patologia medesima. Avremo modo di esporre, sia pure accidentalmente, la confusione che dal campo botanico si rispecchia nel campo medico e veterinario e fitopatologico a proposito della attribuzione di fatti patologici a questi microrganismi e alla loro designazione.

La maggiore raccolta di dati a questo proposito si può trovare nel trattato di Micopatologia Umana, ideato e diretto da Pollacci (44). I primi tre volumi sono stati scritti da AA. medici che hanno trattato con competenza l'argomento e largamente riassunta la abbondante bibliografia micologica in rapporto sopratutto alla patologia generale o speciale e alla terapia, mentre non hanno potuto egualmente tenere in conto la questione delle specie e i loro riferimenti tassonomici. Il Perin (44) nel primo volume sulle micosi polmonari, segue quasi completamente, per quanto riguarda la sistematica degli attinomiceti, gli schemi di classificazione e le denominazioni proposte da Chalmers e Cristo-

PHERSON (14); mentre BOLOGNESI e CHIURCO (44) nel volume dedicato alle micosi chirurgiche non si soffermano in modo particolare sulle diversità specifiche e sovraspecifiche degli attniomiceti. Il CAVARA (44) per altro, nel volume terzo che comprende le micosi oculari, ha più estesamente dei precedenti lumeggiato la eterogeneità delle diagnosi micologiche nei casi di attinomicosi, riportando e comparando in 3 grandi tavole le caratteristiche morfologiche e colturali delle varie specie descritte, molte delle quali sono anonime.

Il materiale così adunato e la vasta bibliografia riunita sono tali da facilitare grandemente la ricerca delle entità specifiche descritte nei casi di attinomicosi, almeno fino agli anni delle loro publicazione. Naturalmente anche in altri trattati redatti ad uso dei medici si trovano elenchi e descrizioni ordinate sistematicamente delle specie note di attinomiceti. Ricordo così il KOLLE e WASSERMANN (30) che nella prima edizione riassumono le caratteristiche di diversi stipiti di attinomiceti, poi i più recenti trattati di CASTELLANI e CHALMERS (12) e CASTELLANI e IACONO (13), quello del NANNIZZI (39) che fa seguito ai volumi del Trattato di Micopatologia di POLLACCI; quelli del BRUMPT (10) e del DODGE (17). Tuttavia questi ed altri trattati non si limitano alla esposizione dei soli attinomiceti, come é evidente, e registrano pertanto solo le specie più note e meglio studiate, in base a criteri diversi di classificazione.

La revisione che noi qui propugnamo deve essere compiuta anche in rapporto alla patogenicità delle varie specie e dei vari generi, e alla loro distribuzione nell'ambiente. Medici e Veterinari fanno rilevare spesso come si verifichino casi di attinomicosi non curabili con la cura iodica, e nella letteratura medica anche più antica si trovano tentativi di classificazione delle attinomicosi in base ad una presunta patogenicità maggiore o minore dei ceppi, e ad una origine ambientale della malattia. Quando si pensi che da un primo sommario accertamento, oggi possiamo asserire che forme di attinomicosi tipiche o abbastanza tipiche possono essere determinate da tutte le specie comprese nei cinque generi della sottofamiglia delle Proactinomycoideae, oltre che s'intende da quelle di *Actinomyces* e forse anche dalla *Micromonospora* (cfr. i diversi casi da *Streptothrix chalceae* della letteratura più antica) dovremmo trarre la conclusione che una conoscenza più precisa dell'agente patogeno nei singoli casi, potrà grandemente aiutare la diagnostica e forse la terapia. Difatti, sebbene ciò non rientri nella nostra competenza, noi non siamo alieni dal credere che quelle forme di attinomicosi non curabili con iodio siano riferibili ad attinomiceti del tipo *Proactinomyces*, le cui affinità con i Mycobatteri, dal punto di vista morfologico, sono state ampiamente rilevate. Non é da escludere pertanto a priori un comportamento analogo nella patogenicità.

Parimente la patologia vegetale e la microbiologia hanno posto in luce la diffusione che gli attinomiceti del g. *Actinomyces* hanno nell'ambiente e nel terreno in particolare. Oltre gli AA. già citati sono da ricordare a questo proposito il NADSON (38), il MUNTER (37), il BEIJERINCK (8), il FOUSEK (20), il COON (16) e infine WAKSMAN e CURTIS (57), i lavori dei quali contribuiscono validamente alle nostre conoscenze sulla diffusione e sulla biologia di questi microrganismi. Per evidenti ragioni di spazio e per la necessaria delimitazione dell'argomento, non possiamo prendere in esame questi, come tutti i numerosi altri lavori, che segnalano o studiano gli attinomiceti del terreno e le loro attività in questo mezzo, in rapporto alla microbiologia del suolo. Ricordiamo invece che l'aumentate nostre conoscenze in questo campo hanno permesso di ritenere non più specifica una tipica malattia da attinomiceti, la scabbia delle patate. Così MILLARD e BURR (35), e WOLLENWEBER (61) elencano un considerevole numero di specie patogene per i tuberi della patata, differenziandone al tempo stesso la sintomatologia.

Tutto ciò ci sembra sufficente a dimostrare il nuovo orientamento che nello studio degli attinomiceti e delle forme patologiche da essi determinate, si impone oggi. Al superato concetto della specificità patologica deve cioé subentrare quello della possibilità di manifestazioni analoghe o similiari da parte di microrganismi diversi e diversamente classificati. Volendo riassumere in linee generiche ma non ancora sicuramente probative, si può asserire che il ruolo delle specie di *Actinomyces* é quello di parassiti patogeni occasionali, mentre quello delle specie della sottofamiglia Proactinomycoideae é in prevalenza di parassiti patogeni obbligati (forme anaerobie e da Mico- e Corinobatteri), senza mettere in discussione l'esistenza di forme diffuse nell'ambiente a carattere saprofita [cfr. Vierling (53), Jensen (27) e Gordon (23)] nonché la varia letteratura sui micobatteri e gli acidoresistenti del terreno.

Ma, come dicevamo, é ancora troppo presto perché si possa dare a queste affermazioni un valore definitivo, mentre si avverte facilmente la necessità di una sperimentazione e di una osservazione clinica in rapporto a queste nuove vedute. Certi rilievi, già fatti da tempo, come quello di Wright (62) e quelli più recenti di AA. americani, secondo i quali gli attinomiceti cosidetti anaerobi debbono essere considerati i veri agenti della malattia e gli aerobi, come i casi di Bostroem (9), dei germi accidentali d'origine ambientale e virulentatisi nell'organismo, trovano in queste nostre vedute una conferma sia pure parziale e, meglio, una precisazione.

Con queste premesse possiamo ora iniziare più particolareggiatamente l'esame delle entità specifiche fino ad oggi note.

Famiglia *Mycobacteriaceae;* sottofam. *Leptotrichioideae.*

Una maggiore osservazione dovrebbe essere portata ai casi da *Actinobacillus* ,forse più frequenti di quanto non sia finora stato segnalato. Una revisione s'impone invece delle specie di *Leptotrichia*, assia poco note o mal descritte. Nei casi di micosi oculari attribuite a queste specie, sarebbe interessante vedere fino a che punto esse sono state confuse con quelle da *Cohnistreptothrix* o viceversa [cfr. Cavara (44)]. Abbiamo già detto della opportunità di uno studio di questa sottofamiglia nei suoi rapporti con le altre famiglie di Schizomiceti, ciò che non dovrebbe essere di gran difficoltà in relazione alla scarsità delle specie note. Per l'elenco di queste specie rimandiamo a Bergey (7) e Nannizzi (39).

Famiglia *Mycobacteriaceae;* sottofam. *Proactinomycoideae.*

Diamo a seguito l'elenco delle specie del g. *Proactinomyces*, che data la sua recente istituzione, non appare nel Bergey (7) nè in altri testi. Per facilitare la ricerca ne indichiamo anche la sinonimia più importante.

Proactinomyces corallinus (Hefferan) Jensen (= *Bacillus mycoides corallinus* Hefferan; *Serratia corallina* Bergey; *Mycobacterium agrestis* Gray et Thornton; *Actinomyces agreste* Bergey; *Proactinomyces agreste* Jensen).

Proactinomyces salmonicolor (den Dooren de Jong) Jensen (= *Mycobacterium salmonicolor* den Dooren de Jong; *Flavobacterium salmonicolor* Bergey.)

Proactinomyces opacus (den Dooren de Jong) Jensen (= *Mycobacterium opacum* den Dooren de Jong; *Mycobacterium crystallophagum* Gray et Thornton; *Actinomyces crystallophagus* Bergey).

Proactinomyces erythropolis (Gray et Thornton) Jensen (= *Mycobacterium erythropolis* e *Act. erythropolis* Bergey.)

Proactinomyces mesentericus (Orla-Jensen) Jensen (= *Mycobacterium mesentericus*).

Proactinomyces flavescens Jensen.

Proactinomyces paraffinae Jensen.

Proactinomyces polychromogenes (Vallée) Jensen (= *Streptothrix polychromogenes* Vallée).

Proactinomyces actinomorphum (Gray et Thorn.) Jensen (= *Mycobacterium actinomorphum; Actinomyces actinomorphus* Bergey).

Proactinomyces minimus Jensen.

[Cfr. per tutte queste specie il Jensen (27)].

Proactinomyces asteroides (Eppinger) E. Baldacci (= *Cladothrix asteroides* Epping.; *Streptothrix aurantiaca* Rossi-Doria; *Actinomyces carneus* Gasp. nec Rossi-Doria; *Mycobacterium asteroides* Lehm et Neum. *Streptothrix freeri* Musgrave e Clegg; *Discomyces brasiliensis* Lindenberg; *Asteroides asteroides* Puntoni); (cfr. Baldacci 1).

A queste specie si devono aggiungere quelle descritte da Puntoni (49) nel suo genere *Asteroides*, che, come abbiamo dimostrato nella parte 2°, deve considerarsi sinonimo di *Proactinomyces*, e cioé:

Proactinomyces Lieskei (Puntoni) n. comb. (= *Asteroides "Liskeyi"* Puntoni.)

Proactinomyces Puntonii (Lopez) n. comb. (= *Asteroides Puntonii* Lopez)

Proactinomyces pseudocarneus (Puntoni) n. comb. (= *Asteroides pseudocarneus* Puntoni).

Rimandiamo a quanto si é già detto, (pag. 87) sui rapporti fra questo genere e i G. *Mycobacterium* e *Corynebacterium*. Per le specie di questi due ultimi generi si veda il Bergey (7) nonchè la recente classificazione dei batteri acidoresistenti del Gordon (23). Qui vogliamo solo esporre alcuni rilievi circa il cosidetto „bacillo di Hansen".

Mycobacterium leprae (A. Hansen) Lehm. et Neum.

E' noto come nei tentativi di coltura di questo microorganismo si siano ottenute forme riferibile ai seguenti gruppi: difteroide; acido-resistenti non cromogeni; acido-resistenti cromogeni; bacilli anaerobi; attinomiceti o forme attinomicetosimili. Noi abbiamo potuto compiere alcune osservazioni ancora inedite su due colture di queste ultime forme e cioé: l'*Act. leproides* (= *Streptothrix* di Deycke) e l'*Act. lepromicola* (ceppo di Souza Arajo); ambedue le colture ci furono rimesse da O. da Eonseca dell'Istituto O. Cruz di Rio de Janeiro, con le suddette etichette. E' assai rilevabile l'affinità e la somiglianza colturale, e morfologica delle due specie, che per i loro caratteri non possono essere assegnate al g. *Actinomyces* cosi come lo abbiamo definito; ma debbono essere incluse nel genere *Proactinomyces*. Inoltre le loro caratteristiche collimano con quelle descritte per altri ceppi attinomicetisimili ottenuti in tentativi di coltura del bacillo di Hansen. Tutto ciò ci fa ritenere che l'ipotesi sostenuta strenuamente dal Kedrowsky (29) e altri AA., e cioé che il bacillo della lebbra debba essere posto in un gruppo di microbi simili agli attinomiceti o alle streptotricee, mentre la loro forma bacillare non rappresenta che un solo stadio del loro essere, é in grado di ricevere alcune conferme sperimentali micologiche. Noi saremmo pertanto propensi ad ammettere che le forme attinomicetisimili ottenute nelle colture non devono essere considerate alla stregua di contaminazioni, ma vere fasi dell'evoluzione del microrganismo, il cui aspetto saprofitico (colturale) é quello di un *Proactinomyces* (o forse anche di un *Mycobacterium*, come potrà essere precisato meglio in seguito).

La ricerca pertanto di queste forme in nuovi tentativi di coltura, il loro studio comparativo e quello della loro posizione sistematica ci potranno dare in un primo tempo una conferma o meno a queste vedute. Noi abbiamo iniziato alcune ricerche a questo proposito, ma, data la vastità del problema e la sua importanza, abbiamo ritenuto anticipare queste vedute, che potrebbero maggiormente orientare altri sperimentatori, in condizioni di lavoro migliori di quello che non possiamo avere noi, e con i quali noi non saremmo alieni di uno scambio di vedute in proposito.

Le specie attribuite ai generi *Actinobacterium* e *Cohnistreptothrix* debbono essere ristudiate, come si é detto, in rapporto alla loro distribuizione in due generi od in uno solo. Difatti mentre ad *Actinobacterium* é riferita la specie di Wolf e Israel, *Actin. Israeli*, e forse la var. *Spitzii*, a *Cohnistreptothrix* si riferisce la *Cohn. Foersteri*.

Sono poi note le seguenti specie, che enumeriamo senza le dizioni generiche, essendo variamente attribuite dai singoli AA.: *Silberschmidti; cunicoli; Neschczadimenki; tenuis; thioettae; necrophorus; discofoliatus; Thibiergei; actinoides; americanus; cylindraceus; anaerobies*. A queste specie occorre inoltre aggiungere l'*Act.* (*Bacillus*) *bifidus*, alcune specie del g. *Distasoa* Pribram; le specie descritte dal Haass, come *Actinobacterium*, e quelle di Levy, già ricordate. Per quanto riguarda la *Foersteri*, oltre ad una comparazione dei casi

di micosi oculare analoghi, occorre come si é detto, una comparazione con le forme di *Leptotrichia* (o *Lepthothrix*) isolate da localizzazioni identiche o similiari. Si rilevi che molte di queste specie non sono state prese in considerazione nel Bergey (7).

Famiglia *Actinomycetaceae.*

Al genere *Micromonospora*, dopo la revisione effettuata dal Jensen (28) debbono essere iscritte le seguenti specie:

Micromonospora chalceae (Foulerton) Orskov-Jensen (= *Streptothrix chalceae* AA.) (cfr. anche Orskov, 42).

Micromonospora fusca Jensen.

Micromonospora parva Jensen.

Micromonospora coerulea Jensen.

Oltre queste il Jensen indica il microrganismo studiato da Williams (58) come riferibile a questo genere.

Sono inoltre da studiare, come specie riferibili a questo genere, l'*Act. monosporus* Schutze e l'*Act. microflavus* Krainsky, secondo quanto rileva anche il Duché (19).

Quanto ai rapporti fra queste specie a quelle di *Actinomyces* e *Proactinomyces*, il Jensen rileva come esistano in quest'ultimo forme di transizione; mentre per i caratteri biochimici le specie di *Micromonospora* sono più vicine a quelle di *Actinomyces.*

L'elenco delle specie riferite ad *Actinomyces*, é di gran lunga superiore a quello dei singoli generi finora considerati, si che non é improbabile una sua suddivisione se non addirittura scissione in due generi diversi, oltre, naturalmente, alle eliminazione di quelle specie che debbono essere riferite a *Proactinomyces* e di quelle che, imperfettamente descritte, debbono essere considerate nulle. Noi abbiamo già esposto i criteri di una revisione per queste specie (Baldacci 1). Raccomandiamo, nello studio di quelle specie descritte per il passato, la più attenta ricerca bibliografica per potere asserire fino a qual punto le colture oggi in nostro possesso corrispondono ai caratteri originari. La documentazione offerta da Puntoni (46) sulla eterogeneità delle colture che vanno sotto la nomenclatura di *Act. bovis* é, a questo riguardo, significativa; mentre si noti che la creazione della terminologia stessa fu fatta, come si é detto, sui caratteri istologici, senza ottenere la coltura del microrganismo e ciò contro le regole stesse di nomenclatura. E' probabile che la stessa confusione colturale si verifichi per altre nomenclature. Così noi abbiamo già documentato l'ambiguità della dizione *Act. hominis*, usata per diversi attinomiceti, in contrapposto della dizione *Act. bovis*, e analogamente ad altre terminologie ricavate dalla specificazione dell'isolamento (*Act. canis*, *Act. caprae*, *Discomyces equi*,). Mentre la dizione *Act. hominis* deve essere abolita, secondo le nostre conclusioni (2), resta a studiare se per le rimanenti corrispondono caratteri colturali ritrovabili in colture esistenti. Altre disparità si trovano nelle colture etichettate sotto *Act. farcinicus* [cfr. Puntoni (4) pag. 39] e *Act. madurae* ecc. La revisione di queste specie di più vecchia creazione si impone, e potrà portare a resultati assai brillanti. Dobbiamo ancora ricordare che l'*Act. scabies* nell'originaria descrizione di Thaxter, é stato emendato, mentre nuove specie sono state descritte capaci di produrre la malattia della scabbia nelle patate.

Oltre le specie ricordate sopra, si debbono considerare come specie imperfettamente descritte e tali da non poter essere prese in considerazione ai fini sistematici, le seguenti: [Baldacci (2)] *Act. luteo-roseus* Gasp.; *Nocardia Riviéri* Verdun (= *Actinomyces* sp. Sebrazés et Rivière); *Actinomyces* sp. Ferré et Faguet. La revisione iniziata per altre specie ha portato ad una esatta determinazione e diagnosi con una accertata sinonimia ben estesa. Così é stato studiato l'*Act. sulphureus* Gasper., di cui si sono identificati ben 19 sinonimi (1); l'*Act. Bostroemi*, con il quale nome si é identificato l'attinomicete studiato da Bostroem, ristudiandolo su di un successivo isolamento, (1); l'*Act. carneus* Rossi-Doria, che presenta affinità con l'*Act. albus* e sul quale é in corso di publicazione uno studio tendente a stabilirne e precisarne le caratteristiche in rapporto alle molteplici varietà e specie affini o con esso confuse; l'*Act. melanosporeus* (1) reisolato nuovamente dopo l'originaria e non più confermata descrizione di Krainsky (31).

Fra i contributi altrui dovremmo prendere in esame il lavoro di Duché (19), sulle for-

me del tipo *Act. albus*; tuttavia di questo lavoro, di cui non approviamo i criteri per la diagnostica delle specie, estremamente suddivise, parleremo più diffusamente nel lavoro ricordato a proposito dell'*Act. albus*. Per gli altri lavori rimandiamo a pag. 106 dove sono stati ricordati, e per quanto riguarda i criteri generali al nostro (4) presentato al VI Congresso Naz. Ital. di Microbiologia. Non ci é naturalmente possibile presentare qui un elenco di tutte le specie che, dato il gran numero, non sarebbe neppure facile compilare in modo esatto; rimandiamo ai trattati più volte citati. Aggiungendovi per parte nostra le 3 specie descritte dal Jensen, senza denominazione specifica, come facenti parte del suo gruppo I B.

Come si vede da questa indagine, la sistematica degli attinomiceti presenta lati ancora oscuri o da studiare o da rivedere in molti generi; mentre i raggruppamenti superiori al genere stanno acquistando una definitiva fisonomia. Il passo più decisivo in tal senso fu fatto con la sistematica degli Schizomiceti, a cura de Bergey e AA. (7), nel 1923 (1° edizione), ma gli studi ulteriori avevano reso necessaria una ulteriore modifica facilmente sentita da tutti coloro che si occupavano dell'argomento. Con la nostra sistematica ci auguriamo un ulteriore approfondimento della nostre conoscenze su questi microrganismi, non solo nel loro aspetto botanico e di classificazione, ma anche per quanto riguarda le loro attività patogenetiche, e biologiche generali. Il nostro schema difatti, accentuando le caratteristiche differenziali delle due famiglie che compongono gli Actinomycetales, e delineando con più precisione e rigore quelle di alcuni generi, apre la via per un proficuo lavoro. Noi ci auguriamo che la nostra classificazione possa essere accettata da tutti i maggiori culturi dell'argomento.

Riassunto

L'A. con il presente lavoro si propone di riassumere le nostre attuali conoscenze sugli Attinomiceti, discutendo in particolare i seguenti punti: *a*) l'eterogeneità morfologica e colturale di questi microrganismi; *b*) necessità di una loro ripartizione in generi diversi; *c*) l'opportinutà di una nuova classificazione che tenga debito conto di queste nozioni; *d*) la possibilità di nuovi studi e di nuovi orientamenti nella ricerca. Ciascuno di questi punti é discusso e documentato in quattro parti diverse del lavoro.

Parte 1ª. — Sono riassunte le conclusioni più significative, a cui sono giunti vari studiosi della morfologia degli Attinomiceti, come l'Orskov e il Jensen che, distinguono tre gruppi, particolarmente documentati.

Una ulteriore e più antica distinzione é suggerita dal carattere di anaerobiosi, sebbene non vi sia un completo accordo nel giudizio di una simile distinzione: l'accettarono il Wright, il Pinoy, Lignières e Spitz, il Puntoni. Wollenweber distinse due sezioni: *Aerothrix* e *Pionnothrix*.

Parte 2ª. — L'A. vi discute in primo luogo a quale dei gruppi distinti in precedenza si debba attribuire la denominazione generica *Actinomyces*, e necessariamente quali dei ricordati gruppi corrispondano ai generi definibili e con quali termini debbano essere contraddistinti.

Parte 3ª. — L'A. propone una nuova classificazione degli *Actinomycetales*, in cui l'emendamento principale consiste nella più rigorosa definizione delle famiglie *Actinomycetaceae*, nella quale debbono essere incluse le specie producenti spore o conidi. E' creata una sottofamiglia in relazione alle loro affinità per i generi *Actinobacterium*, *Cohnistreptothrix*, *Proactinomyces*, *Mycobacterium*, e *Corynebacterium;* essa con il termine *Proactinomycoideae* fa parte della famiglia *Mycobacteriaceae*. Nella sottofamiglia *Leptothrichioideae* sono annoverati quei generi che hanno maggiori affinità con i restanti Schizomiceti. Il

genere *Actinomyces* é considerato come il più evoluto e di transizione agli Eumiceti, ma per l'assenza di un nucleo ben definito si deve considerare appartenente agli Schizomiceti.

Parte 4ª. — L'A. si sofferma ad illustrare i rapporti che questi microrganismi hanno con la patologia e la microbiologia, rilevando che la loro esatta conoscenza con precise diagnosiè grandemente utile a queste scienze. Sono illustrate e discusse le specie note dei singoli generi e rilevate le ulteriori necessità di ricerche sperimentali.

Summary

The actual knowledges on Actinomycetes, chiefly in relation to the following questions: *a*) morpho-cultural eterogeneity of Actinomycetes; *b*) necessity of distribution of the species in many genera; *c*) opportunity of a new classification; *d*) ray-fungi in human pathology; is discussed and documented in four parts of the paper.

Part. I. The most interesting conclusion on the morphology of Actinomycetes are resumed. Orskov recognized three groups, namely: Group I: sporogenic fungi, with the spores growing into a unicellular mycelium that shows no spontaneous division. Out of this substratum mycelium arises an aerial mycelium which divides by a breaking up of the protoplasm into regularly sized parts, which are separated from one to another by constriction on the part of the thread membranes between the individual elements. Group II*a*: fungi which form an initially undivided mycelium with an early incidence of aerial hyphae. Both substratum and aerial mycelia divide spontaneously into segments. Group II*b*: consists of fungi which, partly may grow into true mycelia, later dividing into segments, partly may display angular growth. Group III: consists in the fungus *Streptothrix chalceae*. This fungus forms a unicellular delicate branching mycelium, at the extreme tip of which singly situated, oval spores are formed.

Jensen with reference to the Orskov's paper, recognized: Group I: Organisms producing an aerial mycelium which differentiates into sporelike bodies. Two subgroups could be distinguished: one in which the vegetative mycelium remains undivided, and one in which it divides into a kind of „fragmentation spores". The later subgroup is of rare occurence; and it is not certain that the two subgroups are sharply distinguished. All organisms of this group liquefy gelatin and hydrolyze starch, and several of them are capable of decomposing xylan and cellulose. Those actinomycetes which produce a characteristic brown pigment in protein media belong to this group, which includes the large majority of soil actinomycetes. Group II: Organisms producing an aerial mycelium (sometimes nearly or wholly absent) without any differentiation into spores. The vegetative mycelium divides generally into bacteria-like segments which multiply in the same manner as the *Mycobacterium* and *Corynebacterium*, to which the transition from this group is very gradual. It is suggested that the formation of an initial mycelium be used as a criterium for the genera *Myco-* and *Corynebacterium*. Organisms of this group often do not liquefy gelatin or hydrolyze starch and are always incapable of decomposing cellulose, but generally are capable of utilizing paraffin; several of them are acid-fast. These organisms are of rare occurrence in the soil; their abundance here can increased by addition of paraffin to the soil. Many pathogenic actinomycetes belong to this group. Group III: Organisms producing a vegetative thallus, composed of long delicate branching hyphae. The mode of spore formation resembles the formation of ectoconidia in the bacteria: short lateral branches sprout from the main hyphae, each bearing a single terminal spore, oval to spherical, highly refractive, and staining deeply with anilin dyes and haematoxylin. Spores and mycelium are Gram-positive, but not acidfast. The spores

show a somewhat higher termo-resistance than the vegetative hyphae. The organisms are strictly aerobic, mesophilic. Their proteolytic and diastasic activities are rather weak. Cellulose is decomposed actively by several strains. They may occur in considerable numbers in the soil; their abundance seems increased through addition of cellulose or lignin to the soil.

Another older subdivision has been sketched on the base of aerobiotic and anaerobiotic characteristics; in spite of many diversity of opinions, this criterion has been adopted by Wright, Pinoy, Lignières and Spitz. Puntoni in addition of the two types, strictly allied to the types of Orskov and Jensen, recognized a third type, anaerobic, with bacterial (Corynebacterial) morphology. Wollenweber recognized two sections, namely *Aerothrix* and *Pionnothrix* related with the above quoted types I and II Orskov's and Jensen's.

Part. II. The first problem is the attribution to one of the groups recognized as in the Part. I, of the generic name *Actinomyces*. The genus *Actinomyces* has been founded by Harz on an uncultivated microrganism (*A. bovis*). While the specific name *bovis* must be forsaked as „nomen dubium", three are the possible solutions:

a) the attribution of the generic name *Actinomyces* to the group firstly cultivated since Harz. This first cultures has been made by Israel (1884), but the description is quite obscure and not easily recognizable. The following is made by Bostroem (1885) and the species, fully described, has been reisolated and revised (Baldacci).

b) the attribution of the same generic name to the group of fungi more frequently found on man and cattles. This criterion has been followed by Wright and Buchanan.

c) the attribution according the leading authorities on the study of ray-fungi.

The first criterion is arbitrary and of doubtful application. The second one leads the attribution of the genus *Actinomyces* to the asporigenous, anaerobic species of ray-fungi, a disputed group related, in one or in a few genera, to the group II (see further). In addition, the application of this criterion is in opposition to the common signification of the genus *Actinomyces*. The third criterion is the easiest, also in relation to the convalidation of the nomenclature of the species described by Gasperini, Krainsky, Waksman and Curtiss, Bergey, Millard and Burr, Wollenweber, Jensen, Puntoni, Duchè and so on, so that is adopted, by the writer, attributing the genus *Actinomyces* to the first group of Orskov and Jensen.

The generic name *Proactinomyces* must be attributed to the second group with the exclusion of the anaerobic species, of uncertain nomenclature. The actual knowledges on anaerobic species is yet imperfect, so that it is impossible to decide the reconvalidation of the generic name *Actinobacterium* (Haass) Sampietro (= *Brevistreptothrix* Lignières et Spitz) or *Cohnistreptothrix* Pinoy, or the sinonimization of one or both with the group II (*Proactinomyces*). In conclusion and „ad interim", all three genera are maintained here.

The nomenclature of the III group of Orskov and Jensen (*Micromonospora*) is unquestionable.

Part. III. A new arrangement of ray-fungi is proposed in this paper. The family *Actinomytceaceae* has been more strictly defined with the ray-fungi producing spores and conidia. A new subfamily for the genera *Actinobacterium*, *Cohnistreptothrix*, *Proactinomyces*, *Mycobacterium* and *Corynebacterium* has been founded, with the name *Proactinomycoideae*. In the subfamily *Leptotrichioideae* are enclosed the ray-fungi with affinities tending towards *Schizomycetes*. The genus *Actinomyces*, allied to Schizomycetes in the lack of a nuclear organization, is the highest, tending towards Eumycetes.

Order Actinomycetales Buchanan 1918

Family: **Mycobacteriaceae** Chester emend E. Baldacci

no conidia formed: rod-shaped or coccoid, filamentous higher organized forms, sometimes with two undifferentiated mycelia. Frequently parasitic, unfrequently saprophytic (soil) forms.

Subfamily: *Leptotrichioideae* E. Baldacci

rod-like, rarely slight filamentous branched, forms.

I. with thin and occasional mycelic hyphae. Gramnegative.
   a) cells fusiform . . . . . FUSIFORMIS . . .
   b) cells bacillum-, coccobacillum-, diplococcum- and streptobacillum-likes . . . ACTINOBACILLUS
   c) cells rod-shaped, sometimes filamentous, branched . . . . PFEIFFERELLA

II. with present frequently hyphae. Grampositive.
   a) filaments rod-like, forming long branched mycelic hyphae, filaments also thickened showing characteristic granules . . . . . ERYSIPELOTHRIX
   b) thick, unbranched filaments, fragmented in short, rods, sometimes with granules and septa . . . . . LEPTOTRICHIA

Subfamily: *Proactinomycoideae* E. Baldacci

frequently filamentous, more or less quickly dividing into bacteria-like segments, forms.

I. filaments of initial mycelium with angular growth, clearly divided in bacteria-like segments.
   a) acid-fast . . . . . MYCOBACTERIUM .
   b) not acid-fast . . . . . CORYNEBACTERIUM

II. filaments of initial mycelium as above, with undivided and long branched hyphae; sometimes with aerial mycelium not different from vegetative mycelium. The fragmentation is made in a more advanced stage, when the growth is stopped.
   a) anaerobic, rod-shaped, light branched filamented forms ACTINOBACTERIUM
   b) microaerobic, often branched filamented and sometimes with sclerotial massues, forms . . . . . COHNISTREPTOTHRIX
   c) aerobic, with mycelium well formed and sometimes with undifferentiated aerial and vegetative mycelium, forms . . . . . PROACTINOMYCES

Family: **Actinomycetaceae** Buchanan emend. E. Baldacci

Always producing conidia, with aerial mycelium distinct and thicker than the vegetative mycelium. The conidia are formed on spirals and terminal bend hyphae. Undividing vegetative mycelium. Saprophitic and occasional parasitic forms.
   a) conidia single and separated on the terminal hyphae . . MICROMONOSPORA
   b) conidia seriated and multiple . . . . . ACTINOMYCES

Part. IV. The relation of ray-fungi with pathology and etiology of actinomycosis is illustrated, with notes about species pertaining to one or another genus. The utility of experimental researches also for specific knowledge and description is emphasized.

Bibliografia

(1) Baldacci, E., Atti Ist. Bot. Pavia, **9**, 243—271, 299—314, (1937) **10**, 125—160, 321—329, (1938). — (2) Baldacci E., Mycopatologia, **1**, 68—76, (1938). — (3) Baldacci E., Boll. Soc. Int. Microbiologia (5), 138—147, (1937). — (4) Baldacci E., Atti VI Congr. Naz. Microb. 90—98, (1937). — (5) Baldacci E., Boll. Biol. Sper., **13**, 1187—1188, (1938). — (6) Baldacci E., Ciferri R., Vaccari E., Atti Ist. Bot. Pavia, XI, 75—103, (1938). — (7) Bergey ecc, Manual of determ. Bact., (1925). — (8) Beijerinck, C., Centralb. Bakt., II abt.; **6**, 2—12, (1900). — (9) Bostroem, Ziegler's Beiträge z. Path. Anat. u. z. allg. Path. **9**, 1—240, (1891). — (10) Brumpt, Précis de parasitologie, (1936). — (11) Buchanan R. E., General Systematic Bact., (1925). — (12) Castellani A., e Chalmers A., Manual of tropical medicine, (1919) .— (13) Castellani A. e Iacono I., Manuale di Clinica tropicale, (1937). — (14) Chalmers A. J. e Cristopherson M. A., Ann. of Trop. Med. and Parasit. **10**, 223—276, (1917). — (15) Ciferri R. e Redaelli P., Boll. Ist. Sierot. Mil. (8—9), 1—9, (1929). — (16) Coon H. J., Journal Bact., (1916) e Soil Science **14**, (1922). — (17) Dodge C. W., Medical Mycology, (1935). — (18) Drechsler C., The Bot. Gaz. **67**, 65—83; 145—168, (1919). — (19) Duché J., Les actinomyces du groupe albus, (1934). — (20) Fousek A., Mitteil. d. Hochschule f. Boden Kult., Wien, (1912). — (21) Gasperini G., Ann. Ist. Igene, Roma **2** (N.S.), 167—229, (1892). — (22) Gasperini G., Atti Soc. Tosc. Scien. Nat., Pisa, P.V. **9**, 64—89, (1894). — (23) Gordon B. E., Journal Bakt., **34**, 617—630, (1937). — (24) Haass E., Centr. f. Bakter. Abt. I, **40**, 180—186, (1906). — (25) Harz C. O., Jahresbericht d. Thierarzneischule z. München, **16**, 36—38, (1877). — (26) Israel O., Virchow's Archiv, **95**, 140—145, (1884). — (27) Jensen H. L., The proceedings Linnean Soc. New South Wales. **40**, 231—248, (1930); **57**, 171—180, (1932). — (28) Jensen H. L., ibidem, **46**, 345—370, (1931); **47**, 364—376, (1932). — (29) Kedrowsky W. J., The Journal of Trop. Med. and Hyg., **31**, 17—21, (1928). — (30) Kolle e Wassermann, Handbuch Path. Mikroorganismen, (2), (1903). — (31) Krainsky A., Centr. f. Bakt., Abt. II, 649—688, (1914). — (32) Lieske R., Morphol. und Biol. der Strahlenpilze, (1921). — (33) Ligniéres J., Ann. Parasitol. Hum. et comp., **2**, 1—25, (1924). — (34) Ligniéres J. et Spitz J., Centr. f. Bakt. Abt. I, **35**, 452—461, (1904). — (35) Millard et Burr, Annals of applied Biol. **13**, 580—624, (1926). — (36) Morelli E., Lo sperimentale. Firenze, **83**, 231—255, (1929). — (37) Munter F., Centralb. Bakt. II abt., **36**, 365—381, (1913); **39**, 561—583, (1914); **44**, 673—695, (1916). — (38) Nadson G., citato da Waksman. — (39) Nannizzi A., in Trattato Micopatol. Um. IV, (1934). — (40) Negroni P., Rev. Soc. Argentina de Biol. **10**, 327—334, (1934). — (41) Negroni P. e Bonfiglioli H., Journ. Tropical Med. and Hyg. 1—15 Ottobre, p. 12 (estratto), (1937). — (42) Orskov P., Investigations in to the morphology of ray fungi, (1923). — (43) Pinoy E., Bull. Ist. Pasteur, XI, 929—938, 977—984, (1913). — (44) Pollacci G., Trattato di Micopatologia Umana, (1926—1928) v: I. Perin. Le micosi polmonari; v: 2. Bolognesi e Chiurco: Le micosi chirurgiche. v: 3. Cavara: Le micosi oculari. — (45) Pribram E., Klassifikation der Schizomyceten, (1933). — (46) Puntoni V., Ann. Igiene, **41**, 1—30, (1931). — (47) Puntoni V., Atti VI Congr. Naz. Microbiologia, 17—51, (1937). — (48) Puntoni V., Ann. Igiene Roma, **47**, 157—168, (1937). — (49) Puntoni V. e Leonardi D., Ann. Igiene Roma, **46**, 529—540, (1936). — e Rend. Acad. Lincei, S.VI., (20) (1935). — (50) Redaelli P., Atti VI Congr. Naz. Microbiologia, 53—90, (1937). — (51) Rossi-Doria R., Ann. Igiene Roma, **1**, 399—428, (1891). — (52) Sampietro G., Ann. Igiene, Roma, **18**, 391—416, (1908). — (53) Vierling, K., Centralb. Bakt. II abt., **52**, 192—214, (1921). — (54) Vuillemin P., C. R. Acad. Sci, **138**, 219—221, (1904). — (55) Vuillemin P., Les champignons parasites et les mycoses de l'homme, (1931). — (56) Waksman S. A., Soil Science **8**, 71—207, (1919). — (57) Waksman S. A. e Curtis S. S., Soil Science I, (1916), **6** (1918). — (58) Williams H. U., Jour. Med. Res., **27**, 157—161, (1912). — (59) Wolff M. e Israel J., Archiv f. Path. An. und Phys. und f. Kli. Med., **126**, II—59, (1891). — (60) Wollenweber H. W., Berichten Deuts. Bot. Gesellsch. **39**, 26—30, (1921). — (61) Wollenweber H. W., Arbeiten Forsch. f. Kartoff. 7, (1923). — (62) Wright J. H., Jour. Med. Res., **13**, 349—404, (1905).

Colite algina da *Oscillatoria enterica* n. sp. ad interim, in una scimmia *(Cinocephalus amadriadis)*

per

W. H. Silbergleit e P. Redaelli.
(*Dall'Istituto di Anatomia ed Istologia Patologica, R. Università di Pavia.*)

Con le tavole XVI e XVII.

(20.I.1939.)

Nell'anno 1937 uno di noi (Silbergleit) ha compiuto alcune prove di infezione sperimentale nelle scimmie (*Cinocephalus amadriadis*) con ceppi di *Brucella melitensis*. Gli animali inoculati, dopo che la malattia sperimentale apparve conclamata, vennero sacrificati per lo studio delle alterazioni anatomiche e istologiche. Il sacrificio degli animali avvenne con un colpo d'arma da fuoco al capo. La necroscopia fu eseguita subito dopo la morte degli animali ed il prelievo, l'esame e la fissazione degli organi furono quindi quasi immediati. Vogliamo precisare questo particolare perchè si possa senz'altro escludere che i reperti che verremo esponendo sieno il portato di alterazioni postmortali.

In una delle scimmie esaminate (e che aveva a lungo vissuto in cattività nei pressi di Siena, Italia), vennero riscontrati alcuni reperti parassitarii degni di nota, reperti che si ritengono riferibili a processi preesistenti nell'animale alla infezione brucellare, la quale non durò che una ventina di giorni circa. Il primo di tali reperti si riferisce alla presenza, negli alveoli polmonari, di parassiti che, almeno per quello che si può giudicare dalle sezioni dei loro corpi ora trasversali, ora più o meno oblique, si possono ritenere come Nematodi la cui specie è difficile se non impossibile da definire. Il reperto essendo stato casuale all'esame microscopico del polmone, essendo infatti mancato qualsiasi rilievo degno di nota allo studio del tessuto sia fresco che fissato e dal punto di vista macroscopico, non può essere ulteriormente dettagliato e precisato se non da un punto di vista quasi ipotetico e per esclusione.

Un secondo reperto si è avuto, pure casualmente, all'esame del mesentere dove venne rintracciata una formazione della grossezza di un pisello, riferibile verosimilmente ad un nodo linfatico e costituita da una massa di sostanza similcaseosa entro una capsula discretamente spessa; l'esame microscopico permise una diagnosi di processo granulomatoso dato il reperto di un tessuto ricco di cellule giganti e plurinucleate, attorniante una zona centrale in cui prevalgono fatti disintegrativi e necrotici. Nella massa quasi amorfa centrale e nella zona granulomatosa periferica si rinvengono delle formazioni aghiformi, di varia grandezza, talora spiccatamente ingrossate nella parte centrale a guisa di fuso, che si colorano in vario modo con diverse sostanze coloranti. Anche quì non è facile definire la natura del processo; escluso che debba riferirsi a localizzazioni della *Brucella melitensis*, il nostro giudizio è stato per una localizzazione parassitaria in via di regressione. Naturalmente è impossibile giungere alla precisazione della natura del parassita.

Ma il reperto sul quale noi vogliamo soffermarci è un altro, quello che ha permesso a noi un più dettagliato studio anche per la singolarità sua: non ci è stato dato di poter ritrovare qualche cosa di analogo nella patologia sino ad oggi nota.

L'esame macroscopico dell'intestino crasso non aveva permesso alcun rilievo degno

di interesse; solo la comparazione con quello di altra scimmia poteva permettere la constatazione di un molto lieve assottigliamento, quasi uniforme della mucosa. E' stato l'esame microscopico il quale ha rivelato una singolare alterazione della stessa mucosa: ci si rinviene infatti una perturbazione legata alla azione di un microorganismo che si è dimostrato essere un'alga inferiore delle Cyanophyceae.

Si distingue, già ad un piccolo ingrandimento, la presenza di formazioni simili a fasci di sottilissimi ed uniformi filamenti disposti a guisa di canne di bambù che, dalla superficie della mucosa si addentrano ora in modo perpendicolare, ora in modo obliquo, nella mucosa stessa sino a prendere contatto con la membrana basale; questi singolari fasci sono di vario spessore: ora così larghi (sino ad un millimetro e più) da sostituire in qualche punto la mucosa in modo completo, tale che di essa non si trova traccia; ora meno larghi sino a sottilissimi e costituiti da pochi elementi fascicolati che pure si addentrano nello spessore della mucosa come i primi, di solito in modo più obliquo. L'esame dettagliato mostra queste formazioni fascicolate costituite da un'enorme quantità di elementi cilindrici (quando sono visti in sezione trasversa appaiono perfettamente rotondi), molto uniformi di spessore, (2.5—3 μ). La loro lunghezza è invece oltremodo variabile e non sempre facile a precisarsi perchè molti di questi elementi cilindrici sono sicuramente tagliati dalla sezione del preparato. Tuttavia è possibile indicare delle misure che vanno da 40 sino a 300 μ. La direzione degli elementi è quella retta; talvolta sono lievemente arcuati nella loro porzione terminale distale. Si notano dei segmenti di lunghezza limitata, minore di quell che abbiamo indicato, situati particolarmente sulla superficie della mucosa, che vanno considerati come semplici frammenti o derivati dalla frammentazione dei filamenti più lunghi. In ogni caso anche questi frammenti superano di solito i 20 μ di lunghezza.

Gli elementi cilindrici (che trattandosi di un'alga chiameremo d'ora innanzi *tricomi*) così regolarmente uniformi, hanno sicuramente un'estremità, che sembra essere quella distale, regolarmente arrotondata, smussata a guisa di ditale, e solo più raramente subtruncata, oppure maggiormente acutata. Questa estremità distale libera si riscontra quasi costantemente rivolta verso la parte profonda della mucosa, in modo da lasciar prospettare l'ipotesi che la direzione di accrescimento e l'orientazione ordinaria dei tricomi sia dall'interno del tubo intestinale verso la parete dell'intestino, in senso quasi perpendicolare alla parete stessa entro lo spessore della mucosa. Quando un buon numero di tricomi è riunito in fascio (tallo), è possibile osservare le estremità distali di essi disposte quasi tutte alla stessa altezza e situate più o meno profondamente nello spessore della mucosa, quasi sempre, tuttavia, sino a venire in contatto con le membrane limitanti la sottomucosa verso gli strati muscolari.

I fasci descritti possono essere di vario spessore: ora esilissimi e costituiti da pochi tricomi, rintracciabili penetrati nella mucosa tra due ghiandole tubulari senza che queste appaiano in qualche modo allontanate fra di loro; ora spessi, sino a molto spessi così da sostituire, come si è detto, per grandi tratti la mucosa stessa. Non infrequentemente le estremità distali dei tricomi giunte a contatto con la membrana basale della mucosa si curvano come se avessero incontrato un ostacolo alla loro progressione.

Verso la parte libera della mucosa, sulla superficie di essa, i tricomi variamente sezionati e frammentati, hanno svariate dimensioni e non sono generalmente disposti in fasci, ma in un feltro ad elementi variamente intrecciati.

Noi abbiamo poco sopra parlato di un estremo distale (quello rivolto verso gli strati muscolari della parete intestinale) e quindi di un estremo prossimale, quello rivolto verso il lume intestinale, lasciando apparire che la nostra opinione sia che l'accrescimento delle formazioni venga dall'interno verso l'esterno, rispetto al lume dell'intestino: questa opinione ci viene suggerita dal fatto che quella che noi chiamiamo estremità distale ha l'apice arrotondato, a struttura completa e ben dettagliata, mentre quella che chiamiamo estremità prossimale è troncata come un segmento che si sta frammentando; essa inoltre sembra connessa col feltro irregolare, lasso, poggiato sulla superficie della mucosa, costituito da tricomi variamente e lassamente intrecciati ed intersecantisi in ogni direzione. Di questi noi vediamo solo i frammenti dovuti alle sezioni microtomiche. I fasci di tricomi cilindrici paralleli, partirebbero dalla superficie esterna del feltro per addentrarsi nello spessore della mucosa.

Osserviamo ora molto da vicino la struttura intima dei tricomi, notando che non è facile mettere in evidenza la morfologia interna con i colori ordinariamente impiegati nella tecnica istologica. Per lo più le formazioni in esame non assumono elettivamente i colori di anilina e restano quasi jaline. Anche il Bleu Cotton non permette una evidenziazione netta delle formazioni. L'unico colorante che lascia intravvedere una morfologia interna è l'ematossilina ferrica di Heidenheim; con questa colorazione i tricomi mostrano una membrana uniforme, sottile ma bene distinta, ed una struttura interna a segmenti che è segnata dalla colorazione nera di una sostanza apparentemente fondamentale che delimita delle zone interne, ovalari, ellittiche, più o meno allungate, di 3 sino a 4.5 μ di lunghezza, analoghe a grandi vacuolazioni. Queste cellule differenziate nell'interno del tricoma senza che la membrana di questo partecipi apparentemente alla loro individualizzazione, appaiono evidenti in tutta la lunghezza dei tricomi in modo più o meno accentuato a seconda di vari segmenti e forse della vitalità dei tricomi stessi. Questi non appaiono ramificati: solo apparentemente, per disposizioni fortuite di singoli segmenti, si può avere l'impressione di ramificazioni che sono tuttavia false.

I tricomi si frammentano in porzioni di varia lunghezza, sebbene di uniforme struttura (ormogoni); essi sono costituiti da un numero di cellule che varia da 2 sino a 10—15; la frammentazione dei tricomi sembra avvenire per la differenziazione di un setto trasversale; qualche volta, quando i due segmenti del tricoma non sono molto allontanati, sembra di veder residuare una membranella parietale sottilissima, incolora, probabile residuo della membrana esterna dell'elemento materno. I frammenti che si liberano, quando sono molto piccoli assomigliano a gigantesche artrospore. Questo processo di frammentazione irregolare si nota di preferenza in quella porzione dei tricomi che resta rivolto verso il lume dell'intestino (feltro basale): sono rare le settazioni e le frammentazioni in veri ormogoni nel tratto dei tricomi approfondito nella mucosa intestinale. Le cellule dei tricomi sono nettamente iodofile: infatti le sezioni del materiale fissato, una volta colorate per cinque minuti con normale soluzione di Lugol o con Lugol doppio, asciugate e poi montate in balsamo, oppure montate in gelatina fenicata, mostrano che le cellule algine hanno assunto molto elettivamente l'iodio apparendo giallastre in modo più o meno intenso (a seconda anche dell'ulteriore trattamento dopo il Lugol). Oltre la netta elettività per l'iodio, si deve anche dire che i tricomi trattengono a lungo l'elemento, poichè anche nei preparati allestiti per il metodo Gram, gli stessi tricomi, mentre sono gram-negativi, appaiono giallastri per aver fissato il Lugol mordenzatore e per non averlo ceduto che in parte in seguito alla decolorazione con alcool. La capsula del tricoma resta inattaccata dall'iodio ed appare jalina, cosí si comporta anche la sostanza che tende ad individualizzare nel tricoma stesso le singole cellule; la parte iodofila di queste è rappresentata soltanto da quella formazione che può prendere il nome di „corpo centrale" che è impregnata di una sostanza vicina al glicogeno. Il trattamento con Lugol mette quindi molto bene in evidenza la differenziazione cellulare del tricoma che appare come costituito da una successione di grosse e lunghe artrospore. I tricomi osservati in sezione trasversa mostrano ancora meglio come la capsula non sia iodofila e come tra questa e la sostanza cellulare iodofila vi sia uno spazio nettamente differenziato occupato dal citoplasma che non è colorabile.

Il metodo del Lugol per la chiara individualizzazione dei tricomi e dei loro frammenti (ormogoni) anche i più piccoli, su di uno sfondo non iodofilo o che si conserva appena tinto in giallo limone dopo il trattamento con alcool ed il rischiaramento con xilolo, permette di definire molto bene la situazione del parassita, rispetto la mucosa dell'intestino crasso; abbiamo potuto cosí notare che in qualche zona la penetrazione dell'alga va al di là della membrana basale della mucosa per inoltrarsi negli strati mesenchimali più superficiali della muscolare; in questa situazione tuttavia i tricomi non sono più allineati in ampi fasci, ma tendono a suddividersi, come se la struttura compatta del tessuto impedisse la progressione a fascio. Il fenomeno del superamento della membrana basale si ha solo dove il parassitismo è imponente, dove l'alga è raccolta in enormi fasci e sostituisce totalmente la mucosa. Questo è un elemento ulteriore per avvalorare la nostra ipotesi della direzione di sviluppo dell'alga, dalla superficie della mucosa, in senso centrifugo.

L'iodofilia delle cellule algine ci sembra un reperto di alto interesse: per molte specie di Oscillariaceae il trattamento con Lugol forte mette in evidenza, a mezzo di una colorazione in bruno intenso, la presenza, nella cellula dei tricomi, di

glicogeno; il LANGERON studiando le Oscillariaceae dell'intestino di animali, ha distinto un comportamento diverso di tricomi della *Oscillospira Guillermondi* di fronte al Lugol forte; alcuni tricomi per il loro colore bruno intenso dimostravano evidente il loro contenuto in glicogeno; altri, tingendosi in giallo pallido, lasciavano ritenere (anche per il comportamento di fronte a diversi coloranti) di essere morti.

Per il materiale da noi studiato è necessario, a questo riguardo, fare delle precisazioni: esso materiale, e precisamente la grande maggioranza dei pezzi da noi sezionati e colorati, è stata fissata, immediatamente dopo la morte dell'animale, in sublimato-alcoolico; noi non siamo sicuri che questo fissativo possa permettere la conservazione del glicogeno o delle sostanze affini; il trattamento ulteriore delle sezioni con il passaggio anche in acqua dovrebbe allontanare tutte queste sostanze. Ciò nonostante, la iodofilia dell'alga parassita appare molto intensa anche se non si può affermare nettamente che il colore bruno sia di tale intensità da non lasciar dubbi sulla presenza di glicogeno. D'altra parte la struttura dei tricomi, la loro disposizione, i loro rapporti, ecc. non lasciano dubbi circa la loro condizione vitale al momento della fissazione per cui non si può trattare di materiale morto.

* * *

Ora dobbiamo precisare i rapporti di questa alga filamentosa con la mucosa dell'intestino. Dove il reperto è esiguo è possibile osservare che i fasci di tricomi sono situati nello stroma della mucosa a precisamente tra i corpi ghiandolari: le ghiandole possono essere più o meno fra di loro distanziate dai fasci stessi. Queste non sono sofferenti se i fasci sono piccoli, sono invece spostate, compresse ed atrofizzate quando i fasci sono grossi. Dove il reperto parassitario è imponente ed i fasci sostituiscono parte della mucosa in tutto il suo spessore, le ghiandole sono scomparse ed alla periferia dei fasci algini sono in parte atrofiche con epiteli sfaldati, sofferenti; in genere di esse si conserva più a lungo il fondo, mentre il corpo e la parte distale è sempre profondamente alterato e distrutto. Più raramente i tricomi singoli od in fasci penetrano nei lumi ghiandolari e vengono a contatto con le cellule secernenti.

Mentre i fenomeni di atrofia, di disintegrazione e di distruzione degli elementi della mucosa, sopratutto degli elementi ghiandolari è evidente ed indiscutibile, appare strana un'assenza od una grande esiguità di reazione da parte dei tessuti connettivo-vascolari della mucosa stessa. Dove il parassitismo è imponente e gravi sono anche i fatti disintegrativi ed atrofici, allora, alla periferia dei focolai parassitarii la stroma è modicamente infiltrato di cellule genericamente linfoidi, con qualche cellula plasmatica, qualche elemento istiocitario e qualche eosinofilo. Insistiamo tuttavia sul fatto che tali reazioni dello stroma della mucosa sono limitatissime e non facile è il quesito se esse dipendono più dalla presenza dell'alga (che è spesso imponente) che non dalla conseguenza della disintegrazione della mucosa.

Non è facile definire da un punto di vista anatomo-patologico il processo osservato: l'espressione „colite" non si giudica del tutto esatta mancando un corteggio tale di fenomeni infiammatorii da caratterizzare il processo; potrebbe essere meglio giustificata l'espressione di *colopatia atrofizzante da parassitismo.*

E' inutile insistere nuovamente sul fatto che tale singolare reperto non può essere connesso con azioni posmortali dato che la necroscopia dell'animale è stata eseguita immediatamente dopo il sacrificio violento della scimmia. La casualità del reperto all'esame istopatologico dell'organo ci ha per altro impedito di procedere a tentativi di un isolamento e quindi di una cultura dell'alga, tentativi che anche sotto migliori condizioni difficilmente avrebbero avuto esito. Le altre scimmie studiate nello stesso periodo di tempo non hanno mai presentato un quadro analogo.

* * *

Non è stato certo molto facile il farsi una idea precisa della natura dell'insolito reperto parassitario del crasso della scimmia. Si potè, è vero, ritenere subito che l'organismo rinvenuto fosse di natura vegetale, ma occorsero tutti i rilievi accennati per poterne definire la posizione sistematica, questione complessa anche per la semplicità dei caratteri dell'organismo parassita e per il loro numero molto limitato. Essi sono:

elementi cilindrici isolati o riuniti in un feltro lasso ed in fasci a disposizione parallela; diritti o leggermente curvati in uno stesso senso in corrispondenza della loro porzione distale; uniformi nel loro spessore (circa 2.5 μ o pochissimo di più), variamente lunghi da 20 sino a 300 μ e più; la loro sezione è cilindrica e sono costituiti da cellule che presentano la stessa larghezza dell'elemento ed una lunghezza 1 o 2 volte maggiore della larghezza (2.5 μ di larghezza per 3—3.5—4 μ fino a 5 μ di lunghezza). Le cellule appaiono molto uniformi; anche le cellule terminali sono analoghe alle altre; quella che può considerarsi come la cellula dell'estremità distale appare arrotondata a ditale, più raramente un poco acutata, senza modificazioni della membrana, senza ispessimenti di questa. Non si notano, nelle catene di cellule che formano i lunghi elementi cilindrici, elementi diversi, cisti, cellule durature, e comunque cellule clamidosporiche. Gli elementi cilindrici non posseggono guaina di sorta e sono incolori (od almeno appaiono tali nel materiale fissato). Lo studio citologico delle singole cellule mostra una membrana che è quella dell'elemento cilindrico stesso, un sottile alone protoplasmatico incoloro e che non si colora facilmente (si differenzia discretamente in cenerino con l'ematossilina ferrica) e nell'interno una massa citoplasmatica che si è mostrata nettamente iodofila con una intensità di colore da lasciar supporre la presenza di glicogeno diffuso o di sostanze affini. La massa citoplasmatica sembra rappresentare un cosidetto „corpo centrale", ed occupa quasi tutto il corpo della cellula. Non è stato repertato alcun elemento che possa rappresentare od essere considerato l'equivalente del nucleo. La riproduzione sembra avvenire per l'accrescimento in lunghezza di porzioni dei filamenti cilindrici, porzioni che si distaccano per settazione o per disgiunzione delle cellule; queste porzioni sono formate da un numero di cellule che varia da 2 a 10—15. Non sono state viste spore di qualsiasi natura.

I filamenti cilindrici riuniti in fasci si approfondano nella mucosa del crasso della scimmia e giungono sino in contatto con la membrana basale della mucosa, sorpassandola molto raramente e scarsamente. Questi fasci di parassiti, perpendicolari o quasi alla mucosa sembrano dipartirsi da uno strato disposto sulla superficie della mucosa stessa ed i cui elementi sono fra di loro disposti come un irregolare tessuto a feltro.

In possesso di tali elementi morfologici il nostro pensiero si è rivolto a quei gruppi di organismi filamentosi che sono rappresentati da una parte dalle Clamydobacteriaceae (solfobatteri) e dall'altra da quel gruppo di alghe inferiori filamentose comprese nelle Cyanophyceae di cui le forme meglio note si riferiscono alle Oscillariaceae. Ognuno sa che i confini fra questi due gruppi di microorganismi sono tutt'altro che definiti, e non pochi sono gli AA. che considerano i solfo-ed i ferrobacteri come delle Alghe inferiori. La distinzione sarebbe basata sulla presenza o meno di un vero e proprio nucleo e del cosidetto „corpo centrale" che caratterizza le cellule algine. Tutti gli organismi di questi due suddetti gruppi non posseggono veri nuclei cellulari, tuttavia sembra essere chiaro che le Clamydobacteriaceae non hanno mai il „corpo centrale" (Guillermond, Petit, ecc.), presente invece nelle Cyanophyceae; per questo se i due gruppi insieme riuniti possono essere considerati come intermediari fra le Alghe ed i Batteri per la mancanza di un vero nucleo organizzato, le Cyanophyceae devono essere più strettamente legate alle Alghe per la presenza del „corpo centrale", mentre i solfobacteri, per la mancanza dello stesso, rientrano più logicamente tra i batteri.

Per aver rinvenuto, con lo studio del nostro microorganismo, qualche cosa di paragonabile al „corpo centrale", ricco di sostanze iodofile (glicogeno o stanze affini) e per la

mancanza di molte altre caratteristiche minori proprie della Clamydobacteriaceae, il nostro orientamento è stato per una sistemazione di esso nelle Cyanophyceae. Compito non facile quello di definire ulteriormente la posizione del parassita in queste ultime, per le sue caratteristiche estremamente ridotte e banali in dipendenza forse anche dell'„habitat" parassitario, per la singolarità di questo, per il mancato studio del parassita in condizioni vitali ed infine per l'indeterminatezza del gruppo algino cui dovrebbe appartenere. Le Cyanophyceae infatti costituiscono un insieme di organismi che si devono considerare relativamente isolati dalle altre alghe; la loro organizzazione è assolutamente primitiva, la si potrebbe considerare anarchica, come dice il Dangeard, sopratutto per ciò riguarda la struttura cellulare e per tutto un complesso di fattori che conferiscono alle Cyanophyceae un carattere arcaico.

Per delucidare la questione abbiamo consultato in modo speciale la Monografia delle Oscillariaceae del Gomont (1895), il capitolo delle Cyanophyceae di Geitler e Pascher nel volume „Die Süsserwasserflora" di A. Pascher, ed i contributi di Langeron e di altri a proposito delle alghe inferiori commensali o parassite del tubo gastroenterico di vertebrati superiori. Dei tre grandi gruppi delle Cyanophyceae, rivolgiamo l'attenzione a quello delle Hormogoneae che comprende organismi filamentosi di regola liberi, raramente formanti parenchimi, riproducentisi per ormogoni. E' l'ordine dei Nostocales quello che, oltre le Famiglie Mastigocladiaceae, Rivulariaceae, Scytonemataceae, Microchaetaceae, Nostocaceae, comprende quella delle Oscillatoriaceae alla quale può appartenere il nostro microorganismo. Tra i caratteri che distinguono i generi e le specie di questa famiglia, sembrano avere grande importanza quello proprio delle guaine che, avvolgendo i tricomi, costituiscono i filamenti dell'alga; quello della curvatura dei tricomi che, secondo qualche moderno ricercatore (Schmid, citato da Geitler) costituirebbe una prerogativa abbastanza nettamente fissata alle diverse specie; quello del movimento, ecc. Sono questi dei caratteri che vengono meno nel nostro studio, in parte per non aver potuto osservare l'alga viva, in parte perchè forse assenti (come la guaina, una netta curvatura, la differenziazione delle cellule terminali dei tricomi, ecc.). La disamina tuttavia delle caratteristiche dei singoli generi (che sono molteplici) ha polarizzato la nostra attenzione sul genere *Oscillatoria* Vaucher. La stessa disamina ci ha permesso di escludere l'appartenenza del nostro microorganismo ai generi che sono noti comprendere specie commensali o parassiti dell'intestino di animali (cavia, bovini, ovini, ecc.) e del tubo digerente dell'uomo come *Oscillospira* Chatton e Perard, che ha tricomi brevi, cellule terminali modificate, setti molto avvicinati, cellule disgiuntrici, endospore; *Simonsiella* Schmid 1922, emend. Langeron; *Alysiella* Langeron; *Anabaeniolum* Langeron; ecc.

Le caratteristiche del genere *Oscillatoria* Vaucher sono tutt'altro che bene definite; in ogni caso esse sono così variabili e comprensive da poter accogliere anche il nostro non certo altamente differenziato microorganismo. I caratteri del genere sono:

tricomi isolati o riuniti a formare pellicole o depositi pulverulenti; sprovvisti di guaina o raramente con un'esile guaina; posseggono di solito un movimento strisciante per rotazione intorno all'asse longitudinale; l'estremità dei tricomi è spesso differenziata in aspetti diversi: ora le cellule terminali sono semplicemente arrotondate, ora appuntite, ora ad uncino o quasi a vite. La riproduzione avviene per ormogoni derivati da rottura dei tricomi. Eccezion fatta per il carattere del movimento, che per il nostro microorganismo è totalmente sconosciuto, gli altri caratteri nella loro semplicità e quasi negatività di fronte e quelli positivi di altri gruppi e famiglie, corrispondono.

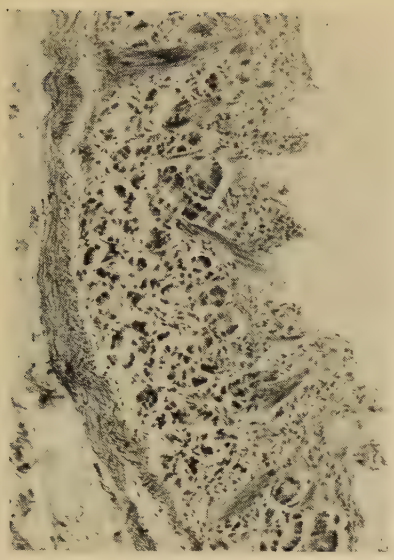


Fig. 1

Fig. 2

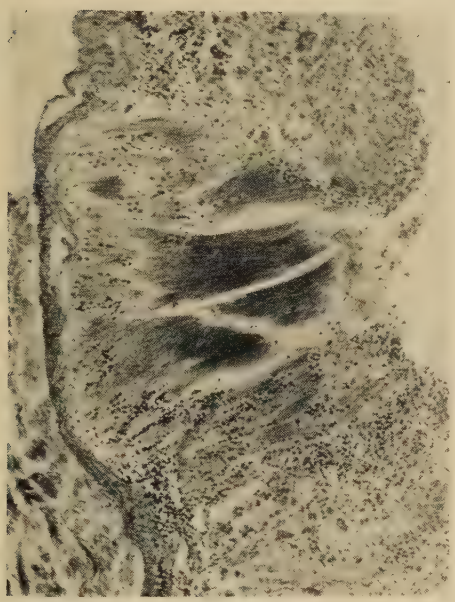


Fig. 3

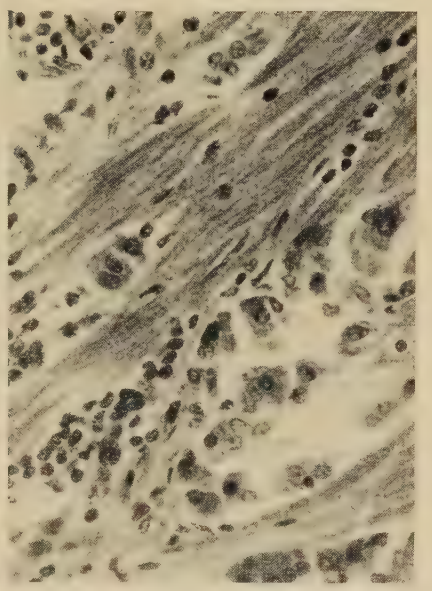


Fig. 4

Fig. 1. sezione di parete di intestino crasso di *Cinocephalus amadriadis:* si noti la presenza di esili fasci di tricomi di *Oscillatoria enterica* che si addentrano nella mucosa (Fotomicrogr. Micr. Universal Reichert, Obb. 2, planocular 8 ×).

Fig. 2. Idem come figura 1: il parassitismo di *Oscillatoria enterica* è molto imponente (Idem come fig. 1).

Fig. 3. Idem come figura 1 e 2: enorme fascio di tricomi di *Oscillatoria enterica* che sostituisce la mucosa intestinale provocando atrofia della mucosa a scarsa reazione infiammatoria (Idem come le figure precedenti).

Fig. 4. Fasci di tricomi di *Oscillatoria enterica* che dissociano le ghiandole della mucosa dell'intestino crasso della scimmia. (Microfotogr. Micr. Universal Reichert, Obb. 5, planocular 8 ×).

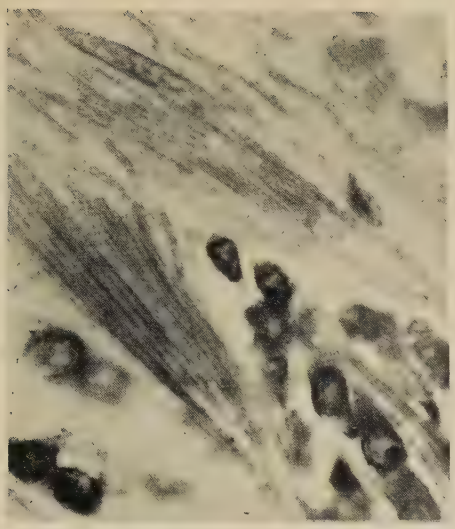


Fig. 1

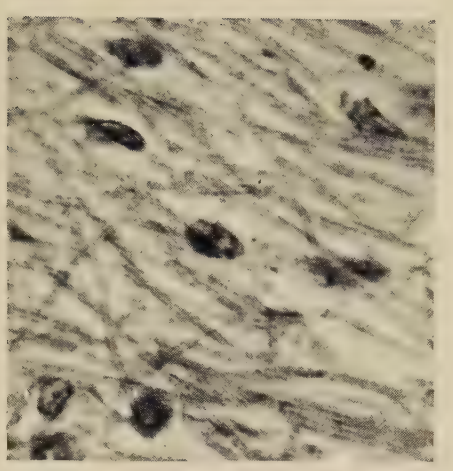


Fig. 2

Fig. 3

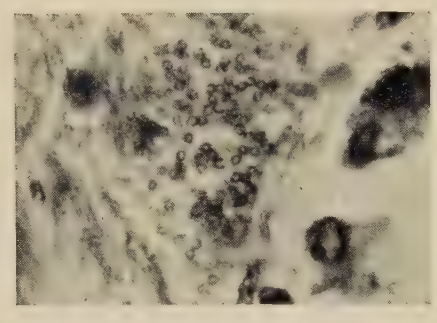


Fig. 4

Fig. 1 e Fig. 2, tricomi di *Oscillatoria enterica* in fasci compatti e lassi nella mucosa intestinale di *Cinocephalus amadriadis* (Fotomicrograf. Micr. Universal Reichert, obb. 8, planocular 8 ×).

Fig. 3. disegno schematico dei tricomi di *Oscillatoria enterica*: *a*) tricomi isolati; *b*) tricomi in fasci paralleli; *c*) fascio di tricomi in sezione trasversa cilindrica. Colorazione ematossilina ferrica di HEIDENHEIM.

Fig. 4. fascio di tricomi di *Oscillatoria enterica* tagliato trasversalmente e mostrante la sezione cilindrica dei tricomi stessi (Fotomicrograf. Micr. Universal Reichert, Obb. 8, planocular 8 ×).

Quasi impossibile è il ritrovare, nella chiave analitica fornitaci da Geitler per le *Oscillatoria* di acqua dolce, una specie che si avvicini alla nostra; a puro titolo di raffronto possiamo indicare la *Oscillatoria profunda* Kirch., come quella che per dimensioni può essere presa in considerazione: essa possiede dei tricomi quasi incolori, ondulanti, a parete liscia; cellule larghe 2 μ, 1—2 volte più lunghe che larghe; cellule terminali arrotondate. Vive nel fango dei laghi (osservata nel Bodenzee a 75 metri di profondità). Hoppe ha osservato una forma con tricomi diritti.

Questo riferimento è assolutamente arbitrario: non si può negare che la provenienza dell'alga all'intestino del cinocefalo dalle acque, più che da altri alimenti, sia una cosa possibile e logica; la possibilità che alghe, come le Oscillarie, che frequentemente amano acque stagnanti e putrescenti dove si forma dell'idrogeno solforato, possano adattarsi a vivere anche nell'ambiente intestinale di vertebrati superiori, non è da scartarsi.

La comparazione del nostro ceppo con quelli noti come commensali o parassiti dell'uomo e degli animali non ci da maggiore soddisfazione: non è facile nè possibile sempre riconoscere la natura, oltrechè specifica, generica e la posizione sistematica di protisti descritti molto tempo fa, come quelli di Leidy che nel 1849 aveva considerato alghe certi entofiti visti nel tubo digerente di miriapodi e di insetti; e come quelli di Robin (1853) in osservazioni fatte in continuazione di quelle di Leidy. Nessun risultato positivo in favore della nostra questione ci da lo studio degli organismi che Leger e Dubosc mettono nel gruppo degli Eccrinidi, commensali e parassiti di animali inferiori; analogamente per le specie del genere *Arthromitus* creato dal Leidy e rievocato da Collin nel 1912 per alghe inferiori dell'intestino dei batraci. La massima cura abbiamo messo per la comparazione del nostro ceppo con quelli visti nell'intestino di animali superiori, come la *Oscillospira Guillermondi* osservata nella cavia e studiata accuratamente da Langeron (1925) e le specie che Simons ha trovato nella cavità boccale dell'uomo (1922). Si può quì appena accennare alla questione dell'*Oscillatoria intestini*, binomio che il Kückenmeister ha dato, senza averla personalmente studiata e senza aver letto il lavoro e considerate le figure di Farre, al microorganismo algino o presunto tale che quest'ultimo autore aveva illustrato nel 1842, avvicinandolo ad *Oscillatoria*, espulso con le feci da una donna affetta da dispepsia. Ma, come rileva Langeron, le caratteristiche morfologiche indicate dal Farre e sopratutto le modalità di riproduzione, rendono molto problematica l'ascrizione di questa specie alle Oscillarie.

La nostra specie invece ha al suo attivo alcune caratteristiche che possono permettere una sua netta differenziazione dalle altre sino ad ora note. Definita con sufficiente approssimazione la sua situazione nel genere *Oscillatoria* per le caratteristiche dei tricomi, delle cellule terminali di questi, per la riproduzione per ormogoni, l'assenza di eterocisti, di cellule durature, di spore, rileviamo qualche carattere che, legato alla condizione di vero parassitismo, può costituire, almeno provvisoriamente un complesso di elementi atti a tenerla distinta dalle altre. Innanzi tutto il carattere di vero parassitismo in quanto ha modificato l'ambiente in cui vive creando una lesione della mucosa intestinale con i quadri di una colite atrofica; gli intimi rapporti dell'alga con il tessuto animale vivente non lasciano dubbi sul significato del rapporto reciproco; noi riteniamo infatti che la lesione della mucosa sia veramente in rapporto con la proliferazione algina alla quale il tessuto ospite non oppone una chiara e sempre evidente reazione connettivo-vascolare (vera infiammazione), ma semplicemente una resistenza passiva che si traduce in atrofia del tessuto. Non è facile pensare ad un'altra interpretazione del rapporto fra il microorganismo e l'ospite e molto difficile sarebbe giustificare i quadri osservati con una

penetrazione o sostituzione di una mucosa precedentemente atrofica per altre cause, da parte dell'alga che non avrebbe trovato una vera opposizione.

Affermato così il vero carattere di parassitismo, altro rilievo interessante è quello dell'orientamento che l'alga stessa assume rispetto al tessuto: le Cyanophyceae riscontrate nell'intestino di animali superiori, sono generalmente ospiti del contenuto intestinale, meno frequentemente si impiantano con la estremità prossimale forgiata a guisa di piede, sulle cellule superficiali della mucosa volgendo il loro corpo filamentoso più o meno lungo nel lume dell'intestino. Nel nostro caso invece, l'orientamento della vegetazione algina, almeno di quella apparentemente più attiva, sarebbe in senso inverso: da una specie di feltro situato negli strati più superficiali della mucosa atrofica o addirittura sulla superficie di essa, si partono tricomi isolati o riuniti in fasci con un approfondimento verso la membrana basale della mucosa stessa. Sopratutto quest'ultimo carattere ci sembra individualizzare bene questa specie, almeno nella sua forma e nella sua condizione di parassitismo animale.

Le argomentazioni surriferite ci inducono ad individualizzare il nostro microorganismo come una specie provvisoriamente distinta che chiameremo.

OSCILLATORIA ENTERICA n. sp. ad interim

tricomi isolati o riuniti a formare un feltro lasso ed irregolare ed in fasci; sprovvisti di guaina, diritti o leggermente curvati nelle loro porzioni più distali (il carattere è particolarmente visibile nei tricomi in fasci); cilindrici, uniformi di spessore (2.5 μ di diam.), vari di lunghezza sino a 300 μ e più. Sono costituiti da cellule del diametro del tricoma e 1 o 2 volte più lunghe che larghe 2.5 × 3.5 — 4 — sino a 5 μ) la cui membrana è la membrana del tricoma, a protoplasma scarso, esile, incoloro, con un grosso corpo centrale che occupa quasi tutto il corpo cellulare, distintamente iodofilo. Cellule terminali non particolarmente modificate, solo arrotondate all'estremità o lievemente appuntite quelle distali. Riproduzione per ormogoni costituiti da frammenti di tricoma di 2 sino a 10—15 cellule. Assenza di eterocisti, di cellule intercalari disgiuntrici, di cellule durature, di endospore. Non osservato il movimento perchè ritrovata allo stato parassitario in materiale fissato. Parassita dell'intestino crasso di Cinocephalus amadriadis dove induce una colite atrofica; l'orientamento del tallo dell'alga (fasci di tricomi) è nettamente centrifugo in quanto parte da un feltro a situazione superficiale sulla mucosa per addentrarsi verso gli strati più esterni della parete intestinale.

Habitat: *intestino crasso di Cinocephalus amadriadis, Siena (Italia).*[1])

---

[1]) *OSCILLATORIA ENTERICA* n. sp. ad interim.

Trichomata singula vel in tenui ac irregolari strato vel in fascibus evaginatis costricta, recta aut in distalibus partibus paullum curvata; cilindracea et eodem diametro semper formate 2.5 μ cr.: usque ad 300 μ longa et ultra. Costituta sunt e cellulis eodem diametro ac trichoma crassis et duplo vel triplo longioribus quam latioribus (2.5 × 3.5—4.—4.5—5 μ). Earum membrana eadem est trichomatis cum protoplasma deficient exili, non colorato, corpore centrali fere totam cellulam invadente, palam iodophylo.

Cellulae apicales superne tantum convexae aut leviter acuminatae. Propagatio fit per hormogonia idest per fragmenta trichomatum, 2—10—15 cellulis constituta. Omnino desunt heterocystae, cellulae intercalares separantesque, cellulae persistentes, endosporae.

Trichomata immobilia quia in statu parasitico inspecta atque in paraphina servata.

Thallus algae plane centriphugus, fasces enim trichomatum exorti e parte externa mucosae entericae in ipsam mucosam progressi radiorum instar membranam basalem attingunt.

Habitat: in intestino crasso *Cinocephali amadriadis* quod colite atrophica afficit. Senae id Italia.

Sommario

Gli AA. illustrano morfologicamente e cercano di definire la posizione sistematica di un microorganismo riscontrato nella mucosa dell'intestino crasso di un *Cinocephalus amadriadis* sacrificato durante un'infezione sperimentale da *Brucella melitensis*. Questo microorganismo che possiede evidenti attività parassitarie, induce nell'animale una colite atrofica. Il suo studio ha permesso, in via di semplice orientamento, la sua situazione nelle Cyanophyceae e più precisamente nel genere *Oscillatoria* Vaucher apparendo abbastanza vicina alla *O. profunda* Kirch. almeno sulla base dei più elementari caratteri morfologici. Dato lo stretto parassitismo e il particolare orientamento che i fasci di tricomi assumono centripetamente rispetto il lume intestinale, viene creata una nuova specie „ad interim" col binomio:

OSCILLATORIA ENTERICA n. sp. ad interim

tricomi isolati o riuniti a formare un feltro lasso ed irregolare ed in fasci, sprovvisti di guaina, diritti o leggermente curvati nelle loro porzioni più distali; cilindrici, uniformi di spessore (2.5 μ di diam.); vari di lunghezza sino a 300 μ e più; sono costituiti da cellule del diametro del tricoma e 1 o 2 volte più lunghe che larghe, la cui membrana è la membrana del tricoma, con protoplasma scarso, esile, incoloro, e con un grosso corpo entrale che occupa quasi tutto il corpo cellulare, distintamente iodofilo. Cellule terminali non particolarmente modificate, solo arrotondate all'estremità o lievemente appuntite. Riproduzione per ormogoni costituiti da frammenti di tricomi di 2 sino a 10—15 cellule. Assenza di eterocisti, di cellule intercalari disgiuntrici, di cellule durature, di endospore.

I tricomi formano un feltro sulla superficie della mucosa intestinale; dalla faccia esterna di questo feltro si dipartono i fasci di tricomi paralleli che si approfondano perpendicolarmente o poco obliquamente nella mucosa intestinale, inducendo una colite atrofica.

Habitat: intestino crasso di *Cinocephalus amadriadis*, Siena (Italia).

Summary

An algal species found in the large intestine of a monkey (*Cinocephalus amadriadis*), experimentally infected by *Brucella melitensis*,induced an atrophic colitis. This clearly parasitic Alga has been defined as a Cyanophycea of the genus *Oscillatoria* allied, from the standpoint of morphology, to *O. profunda* Kirch. On the base of the parasitism, and in account of the centripetal direction of trichomatic bundles (as related to the intestinal lumen), the species has been described as a new one „ad interim" under the binomial *Oscillatoria enterica*.

Bibliografia

Chatton E. et Perard C., C. R. Soc. Biol., **74**, 1159, (1913). — Collin B., Arch. zool. éxper. et géner., **51**, N.R., (1913). — Geitler L. und Pascher A., Die Süsserwasserflora, Heft 12, Cyanophyceae, etc., G. Fischer, Jena, (1925) — Gomont M., Ann. des sci. nat., (7), Bot., **15**, 263—368 (1892); **16**, 91—264, (1892) — Grassé P., Arch. zool. expér. et géner., **62**, N.R., (1924) — Grassé P., Ann. parasit. hum. comp., **3**, 343, (1925) — Langeron M., Ann. parasit. hum. comp., **1**, (1), 75—89, 113—123, (1923) — Leger et Dubosc, Arch. zool. éxper. génér., **56**, N.R., 21, (1916) — Nadson et Krassilnikow, C. R. Acad. Sci., **187**, 156, (1928) — Petit A., Thèse Fac. Sci., Paris, Série A., N. 1948, (1927) — Poisson R., C. R. Acad. Sci., **185**, 1328, (1927) — Simons H., Centrbl. f. Bakter., II Abt., **50**, 356—368, (1920); Idem., I. Abt., Orig., **88**, 501—510, (1922).

Sul presunto *Endomyces albicans* Vuillemin

per

P. Redaelli, R. Ciferri e C. Cavallero.

(*Dall'Istituto di Anat. e Istol. Patol., R. Università di Pavia e dall'Ist. Botanico, Facoltà di Agraria, R. Università di Firenze.*)

Con le tavole XVIII e XIX.

(25.I.1939.)

Questo studio ha avuto origine dalle indagini eseguite intorno ad un ceppo nordamericano di *Monilia albicans*, studiato insieme alla serie di *Mycotorula albicans* di cui riferimmo in una precedente pubblicazione (Ciferri, Redaelli e Cavallero, 1938). L'accertamento dei caratteristici quadri morfologici presentati dal ceppo in microculture, ci ha indotto ad approfondirne l'esame, mettendolo in rapporto al presunto ritrovamento di una forma ascogena di *M. albicans*, l'*Endomyces albicans* Vuillemin od *Endomyces Vuillemini*.

Origine del ceppo: Monilia albicans, Ceppo N. 160 del Department of Bacteriology, University of Illinois, Urbana, Ill. U.S.A., gentilmente inviatoci dal Dr. F. M. Klarck per interessamento del Dr. Tanner. Sconosciuto il caso di isolamento.

Caratteri colturali: in terreni agarizzati, sviluppo abbondante con formazione di una patina bianca, cremosa, densa, piana, a superficie finemente rugulosa, quasi opaca, a margini lievemente circinati con un sottilissimo alone periferico di vegetazione ramosa. In terreni gelatinizzati: caratteristiche identiche ma sviluppo più scarso. In terreni liquidi: in acqua pepto-glucosata deposito sub-pulverulento, con tracce di anello superficiale, senza velo. In decotto di patata, denso deposito caseoso-mucilaginoso, piuttosto compatto. In decotto di carota, abbondante deposito pulverulento-submucoso, con rarissimi veli natanti, con un anello superficiale spesso e completo.

Colonia gigante: (in agar glucosato Difco a 22°C) dopo 13 giorni: rotondeggiante, di circa 15 mm di diam., bianco-giallastra nella parte centrale, biancastra nella periferica, finissimamente circonvoluta al centro, finemente plicato-granulosa alla periferia, lievemente soprelevata sul substrato nella sua parte centrale, mentre la periferica è meno spessa e degradante verso i margini. Tutta la colonia può presentare delle finissime pliche o solchetti superficiali, talvolta radiali, tal'altra anastomizzati e formanti un finissimo reticolo a maglie sopratutto disposte in senso radiale. Margine netto e sottile (Tav. XVIII, fig. 1).

Caratteri biochimici: Fermentazioni (a 37°C):

	dopo 1 giorno	dopo 2 giorni	dopo 4 giorni	dopo 6 giorni
glucosio	±	++	++	+++
levulosio	+	+++	+++	+++
mannosio	—	++	++	++
galattosio	—	—	—	—
maltosio	+	++	++	++
saccarosio	—	±	±	±
lattosio	—	—	—	—
raffinosio	—	+	++	++

Assimilazioni:

Glucosio	+	saccarosio	+	asparagina	+
levulosio	—	lattosio	+	nitrato di K	—
mannosio	—	raffinosio	—	nitrito di K	—
maltosio	—	peptone	+	solfato di NH_4	—

Fluidifica la gelatina (dopo 6 giorni a 22°C); coagula il latte (dopo 60 giorni a 22°C).

Caratteri micromorfologici: in goccia pendente (acqua pepto-glucosata) dopo 3 giorni a 37°C, si ha solo lo sviluppo molto rigoglioso di grosse blastospore tutte ovalari od ellissoidali, a protoplasma omogeneo, denso, con un globulo rifrangente, formanti delle brevi catenelle ramificantisi ad arbuscoli. Qualche blastospora si allunga per formare degli elementi bastonciniformi ciascuno dei quali porta all'apice una grossa clamidospora quasi sferica, molto rifrangente, a tunica spessa e nettamente duplicata. Manca, nel complesso, una formazione di pseudomicelio che, dopo dodici giorni, è invece bene evidente, con molta ricchezza di clamidospore apicali le quali, distaccate, sono atte a gemmare come qualsiasi blastospora. Gli strisci in piastra di agar nutritivo, dopo 4 giorni a 37°C, mostrano un apparato pseudomiceliare discretamente sviluppato, composto di segmenti brevi, variamente catenulati, con ramificazioni laterali constituite da corti elementi a citoplasma molto granuloso, aventi all'estremo un altro segmento, corto e quasi piriforme che porta all'apice una tipica clamidospora sferica a doppia membrana molto rifrangente a citoplasma vacuolato a granuloso. Talvolta, invece di una, si hanno due clamidospore seriate, ed in rari casi anche una catenella di quattro. Sullo stesso mezzo, all'esame dei margini delle colonie strisciate, dopo dieci giorni, si vedono quadri di una tipica *Mycotorula-Mycotoruloides* con prevalenza di forme di *Mycotorula*. In mezzo ai rami pseudomiceliari normali con blastospore ovoidi, si osservano dei corti rami portanti le solite clamidospore sferiche acrogene. In acqua di patata, nel frammento di anello, più che nel fondo, si ha abbondante formazione di clamidospore di cui quelle distaccate dal ramulo generatore in attività di gemmazione come le normali blastospore ovoidi molto più abbondanti, alle quali sono frammiste. In pezzi di carota, dopo 75 giorni di cultura, si hanno numerosissime blastospore in stato di sofferenza e quindi molto polimorfe e polimetriche, per lo più raggruppate irregolarmente a catena, talvolta inserite su di un pseudomicelio ad elementi tozzi; in ogni caso le clamidospore hanno le stesse caratteristiche osservate nelle culture in altri terreni. Non si formano mai aschi, come non si ha mai uno stato ascogeno anche nel terreno di Gorodkowa.

La modalità di generazione delle clamidospore sferiche acrogene è stata seguita con una particolare cura nelle microculture in goccia pendente e in cultura con il metodo Rivalier-Seydel. Sulle ife, generalmente lunghette sino a lunghe dello pseudomicelio, si formano dei corti ramuli laterali composti di una o poche cellule allungate e costituenti altri pseudomiceli di secondo ordine. All'apice di questi ramuli si differenziano una o due o poche cellule raccorciate, ovoidi od elissoidi o piriculate, di cui una o qualcuna evolve a clamidospora rigonfiandosi, ingrossando la propria tunica (che più tardi apparirà duplice) e che mostra un citoplasma denso granuloso e seminato di puntolini o gocciole luminose. Più tardi anche gli apici dei pseudomiceli di primo ordine possono generare le clamidospore acrogene. Finchè tali clamidospore rimangono „in situ" non ulteriormente si modificano; ma se si distaccano e cadono in un mezzo favorevole alla loro ulteriore evoluzione, come si ha in goccia pendente o negli strisci in capsula di Petri (ma non ad es. sui portaoggetti preparati per la cultura alla Rivalier-Seydel) gemmano facilmente come una normale blastospore, anzi, di regola, più abbondantemente, formando spesso dei complessi arbuscolari od a corona molto densi.

Dunque, nel complesso, queste clamidospore hanno il significato di tallospore funzionalmente non distinte dalle blastospore, ma probabilmente atte a funzionare come elementi riproduttivi vegetativi, distinte forse dalle normali blastospore per una maggiore resistenza all'ambiente esterno ostile e quindi funzionanti come spore di resistenza.

Le annesse fotomicrografie ed i disegni schematici illustrano quanto si è detto sin quí. Dal che si deduce pure che i rapporti tra i ceppi di *Mycotorula* del tipo *albicans* a facile ed abbondante formazione di clamidospore ed i veri *Endomyces* non vanno oltre ad una superficiale somiglianza e che ogni illazione anche solo nelle possibilità di ulteriore evoluzione delle clamidospore ad aschi generanti ascospore non ha alcun fondamento. (Tav. XVIII e XIX).

Discussione dei risultati e conclusioni:

Le caratteristiche generiche del lievito in studio sono indubitabilmente quelle di una *Mycotorula* che, per i suoi caratteri generali, culturali e biochimici, si avvicina

notevolmente alle *M. albicans* (Rob.) Lang. et Tal. Poichè di questa specie è stato discusso a lungo in una precedente contribuzione (Ciferri, Redaelli e Cavallero, 1938), rimandiamo a questa per ulteriori notizie e per i raffronti del caso.

Un carattere scarsamento distintivo, se preso isolatamente, ma che nel complesso ha pure qualche peso, è che nel nostro ceppo il raffinosio è rapidamente ed intensamente fermentato, mentre il saccarosio non lo è affatto o pochissimo.

Nella micromorfologia del fungo un carattere distintivo riesce immediatamente evidente: la precoce ed abbondante formazione di clamidospore acrogene, che danno ai quadri morfologici un aspetto particolare e ben tipico. La presenza delle clamidospore terminali è un carattere normale del gruppo di ceppi contenuti nella *M. albicans*, ed osservati (descritti o figurati) da quasi tutti coloro che hanno studiato bene questa specie. La loro segnalazione risale addirittura alla descrizione originale del Robin (1847) di *Monilia albicans*, ove queste formazioni sono più volte discusse, sia per la loro origine che in rapporto al loro contenuto, in maniera molto precisa. Ad esempio ad un certo punto è detto: „l'estremità libera o sporifera dei filamenti e delle loro ramificazioni è o arrotondata senza rigonfiamento o *formata da una cellula sferica od ovoidea, più grossa delle precedenti e separata da queste da uno strozzamento molto marcato. Questa cellula terminale rigonfiata ha un diametro di 5—7 μ. Spesso le cellule che precedono il rigonfiamento terminale sono ovoidi, corte e danno al filamento terminale un aspetto varicoso o toruloso*". (Il corsivo è nostro). Si confronti questa descrizione con alcune delle fotomicrografie riprodotte nella presenta nota e si vedrà che la coincidenza è perfetta, mentre l'iconografia presentata dal Robin è altrettanto significativa.

Se le caratteristiche che Vuillemin (1903) ritenne di un *Endomyces* sono già note per la *Monilia albicans* di Robin ,l'erronea interpretazione delle clamidospore terminali quali aschi non risale egualmente a Robin il quale, mentre parla di presunte spore miceliche della *Monilia* non accenna mai ad endospore contenute nelle clamidospore, esprimendosi in tal modo: „Le cellule terminali rigonfiate sono probabilmente delle spore vicine a staccarsi". Si noti che per spore Robin intende sia le cellule gemmanti (blastospore) che le clamidospore apicali „in toto", che, infine, le granulazioni incluse nelle ife miceliche.

L'interpretazione delle clamidospore terminali di *M. albicans* quali aschi e quindi il trasporto di *Monilia albicans* ad *Endomyces albicans* risale a Vuillemin, il quale però, sia nella citata prima pubblicazione sull'argomento, sia in tutte le posteriori sino al Manuale del 1931, è piuttosto ambiguo ed esita di pronunciarsi esplicitamente e tutto lascia supporre che egli, in realtà, non abbia mai visto la formazione di ascospore in seno alle clamidospore e che la definizione di *Endomyces* sia stata basata sulla presunzione che le clamidospore potessero eventualmente evolvere in aschi.

Comunque, in nessuna delle pubblicazioni poteriori a quella prima di Vuillemin è descritta l'evoluzione delle clamidospore ad aschi contenenti ascospore. Avrebbe dovuto essere di poco posteriore alla fondazione della combinazione *Endomyces albicans*, la studio del Landrieu, inventore del binomio *Endomyces Vuillemini*, con l'intento, sembra, di distinguere una *Monilia albicans* asporigena da un *Endomyces albicans*; ma questo studio è stato irreperibile per noi non meno che per il Dodge (1935). D'altro canto, la combinazione appare negli studi del Lindau di quell'epoca da noi consultati cosicchè non sembra che Landrieu sia una trascrizione ortograficamente scorretta di Lindau. Inoltre anche nel 1931 Vuillemin insiste nell'assegnare a Landrieu il binomio *Endomyces Vuillemini*. E' quindi probabile che la combinazione del Landrieu si sia divulgata attraverso un binomio d'etichetta, o sia stata espressa a Vuillemin dall'in-

ventore e comunque non direttamente pubblicata dal LANDRIEU, caso per nulla isolato nella nomenclatura micologica dovuta ai medici.

Il classico studio di GUILLIERMOND sulla cariologia e citologia dei lieviti, incluse pure l'*Endomyces albicans* nel senso di VUILLEMIN, e se tale fungo fosse stato sporigeno le spore non sarebbero sicuramente sfuggite ad uno studioso accurato quale è GUILLIERMOND. Comunque, abbiamo voluto sincerarcene scrivendo direttamente a GUILLIERMOND che ci ha risposto confermando l'asporogenicità del ceppo vuilleminiano. Tale reperto è stato confermato recentemente anche dalla STELLING-DEKKER (1931) che non ha osservato la produzione di ascospore e riporta le caratteristiche morfologiche sulla fede di VUILLEMIN.

Rimane dunque chiara la analogia tra il quadro morfologico presentato dal ceppo che studiamo in questa nota e quello reso classico dalle illustrazioni di VUILLEMIN e che orna la copertina del trattato del 1931 (si confronti con le nostre fotomicrografie): VUILLEMIN ha avuto per le mani un ceppo a facile ed abbondantissima produzione di clamidospore apicali, ed ingannato dalle superficiali apparenze, ha ritenuto che le clamidospore fossero uno stato evolutivo di aschi. Ha quindi definito il fungo come un *Endomyces*, ritenendo possibile o probabile la sporogenesi delle clamidospore.

La specie più vecchia di questo gruppo di *Mycotorula* ad abbondante produzione di clamidospore è quella che sta alla fondazione del genere *Parendomyces*: *P. albus* Queirat et Laroche, che però parrebbe priva di potere fermentativo ed è quindi riferibile a qualche diverso gruppo di *Mycotorula*.

Secondo ogni probabilità l'assunzione di una *Mycotorula* del tipo *albicans* come ascosporica (*Endomyces*) sulla base della formazione di clamidospore, si è ripetuta due altre volte, entrambe nel 1918. Un primo caso si ebbe con la creazione di *Endomyces pulmonalis* Senez, isolato da casi di pseudotubercolosi in Argentina e quindi reisolato due volte in Italia nel 1924 da sputi siero-mucoso-purulenti di pazienti affetti da ascesso polmonare. La descrizione di SENEZ è molto sommaria; POLLACCI e NANNIZZI (I miceti pat., *4*, N. 34, 1925) che studiarono le culture del fungo, non trovarono gli aschi, mentre osservarono e figurarono bene delle numerose e ben sviluppate clamidospore apicali; è interessante, a questo riguardo, il confronto tra le figure di POLLACCI e NANNIZZI e quelle di VUILLEMIN (l.c. 1931) e le nostre. Disgraziatamente lo studio delle attività biochimiche di questo lievito non è stato effettuato, nemmeno nell'ulteriore caso italiano del DE CASTRO (citato in NANNIZZI, Rep., p. 139, 1934), ond'è che la specie è stata messa dal DODGE (Medical Mycology, p. 178, 1935) in appendice al genere *Zymonema*.

Naturalmente ogni sicura reidentificazione è oggi impossibile; ma poichè i caratteri noti si riportano bene a quelli dell'*Endomyces Vuillemini*, sino a prove in contrario riteniamo l'*E. pulmonalis* sinonimo di quella specie.

Anche l'*Endomyces Cruzi* De Mello et Paes, isolato a Lisbona dallo sputo mucoso di un soggetto pseudoasmatico, secondo la descrizione originale viene a coincidere con l'*E. Vuillemini*, qualora si interpretino come aschi le clamidospore apicali e come ascospore i globuli lipidici in queste contenuti. Anzi, gli Autori avrebbero persino ritrovate nel fungo le „endospore miceliari" di VUILLEMIN, sia ben definite, sia presentatesi sotto forma di condensazioni protoplasmatiche, ciò che conferma l'opinione che le presunte endospore di VUILLEMIN sieno gocciole di lipidi condensate nel citoplasma delle vecchie cellule. I caratteri differenziali tra *E. Cruzi* ed *E. albicans* Vuill. consisterebbero in un maggior adattamento della prima specie a mezzi alcalinizzati, differenza senza importanza poichè oggi è noto che i lieviti si aggiustano immediatamente la rea-

zione del mezzo al pH ottimo, quale che sia il pH alcalino di partenza, compatibile con la loro attività gemmativa. Una ulteriore differenza, a parte qualche dettaglio inerente ai caratteri colturali, senza interesse per la diagnosi differenziale, si ha nel fatto che l'*E. Cruzi* fermenta il destrosio (= glucosio) quando, secondo gli Autori, l'*E. albicans* non lo fermenterebbe, ciò che non è vero; come si deduce da quanto è scritto a pag. 597 nella tabella delle fermentazioni, gli studiosi sono incorsi nell'errore di distinguere glucosio da destrosio, attribuendo all'*E. Cruzi* una capacità fermentativa del destrosio e del glucosio, quando l'*E. albicans* fermenterebbe il glucosio ma non il destrosio. Circa la fermentazione del saccarosio, quasi nulla nel nostro ceppo, è probabilmente un carattere oscillante da un ceppo all'altro. Poichè, naturalmente, le presunte differenze nel doppio contorno o meno dell'asco ed il numero delle ascospore per asco non sussistono, ci pare poter dedurre che l'*E. Cruzi* deve riferirsi al ceppo clamidosporico di *E. albicans*.

Gli stessi dubbi gravano sull'ascogenicità dell'*Endomyces bonaerensis* Greco (Orig. des Tum. p. 123—156, 225—231 e 412—421, fig. 54—68, 1916) anche dall'osservazione delle figure; e lo stesso Dodge dubita delle presunte ascospore se pone il fungo nel genere *Zymonema*. E' possibile che anche la specie del Greco sia da riportare ad un ceppo molto clamidosporico di *Mycotorula albicans;* ma permangono dei dubbi.

In conclusione, non ci sembra che al ceppo molto clamidosporico di *Mycotorula albicans* possa assegnarsi un rango distintivo dal tipo che ecceda quello di varietà. Circa la nomenclatura di tale varietà si deve osservare che il primo nome valido sarebbe quello di *Vuillemini* Landrieu se la pubblicazione di questo Autore fosse rintracciabile e da ritenere valida. Stando cosi lecose sembra valida la prima citazione „fide Castellani et Chalmers (1913)".

MYCOTORULA ALBICANS (Robin) Lang. et Tal. var. Vuillemini (Landrieu ex Cast. et Chalm.) nob., n. comb.

= *Endomyces albicans* Vuill., C. R. Acad. Sci. Paris, *127*, 630, (1898); et Rev. Mycol., *21*, 43, (1899), (non Johan-Olsen, 1897, non Okabe 1929)

= *Endomyces Vuillemini* Landrieu, fide Cast. et Chalm. Manual Trop. Med. and Hyg., 2° Edit., (1913) (nec non de Mello et Fernandez, Arch. Hig. Pat. Exot., *6*, 130—134, (1918) et Vuillemin, Les Mycoses etc., (1931)).

= *Guilliermondiella Vuillemini* Dodge, Med. Myc., 136, (1935).

= *Endomycopsis albicans* Stelling-Dekker, Verh. k. Akd. Wetensch. Amsterdam, Afd. Nat., *28*, 231, (1931).

= *Parendomyces Vuillemini* Dodge, Med. Mycol., 245, (1935).

= ? *Endomyces bonaerensis* Greco, Argentina Med., (1908); Orig. d. Tumeurs, 123—126, 225—231, 412—421, (1916).

= *Zymonema bonaerense* Dodge, Med. Myc., 175, (1935).

= *Endomyces pulmonalis* Senez, Bol. Lab. Bact., Tucuman, *1*, 58, (1918); Pollacci et Nannizzi, I miceti pat., *4*, N. 34, (1925); Nannizzi, Rep. 139, (1924); Dodge, Med. Myc., 178, (1935).

= *Endomyces Cruzi* De Mello et Paes, Arq. Hig. et Patol. Exot., *6*, 51—60, (1918).

a typo differt chlamidosporis sphaericis apicalibus densissime praecociter efformatis; glucosium, laevulosium, mannosium, maltosium et raffinosium bene fermentat; glucosium, saccharosium, lactosium, peptonum et asparaginam valide assimilat.

Hab.: *ut typus, sed minus vulgatus.*

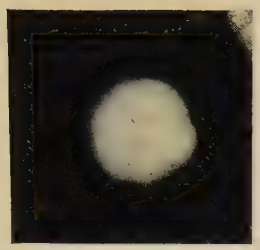


Fig. 1

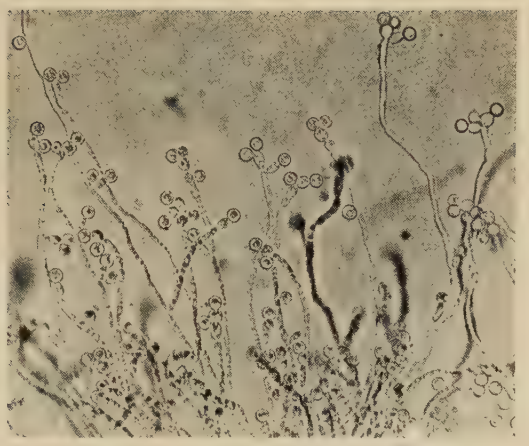


Fig. 2.

Fig. 3.

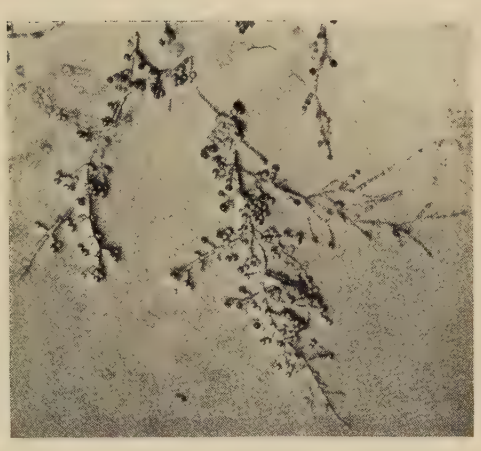


Fig. 4.

Fig. 1. Colonia gigante in agar glucosato Difco di *Mycotorula albicans* var. *Vuillemini* nobis.
Fig. 2, 3, 4. vari aspetti della micromorfologia di *M. albicans* var. *Vuillemini* in superficie di agar glucosato Difco.

Fig. 1. aspetti micromorfologici con il quadro evolutivo delle clamidospore acrogene di *Mycotorula albicans* var. *Vuillemini* nobis.

Summary:

The micromorphology displayed by one north american strain (Illinois) of *Monilia albicans* is identical to the classical morphology of *Endomyces albicans* Vuill. or *E. Vuillemini*. From the study of the strain, the conclusion is that the very abundant and early production of acrogenous spherical, double-walled chlamidospores were considered as asci, only for the superficial analogy with true species of the Genus *Endomyces*. The original Vuilleminian strain, conserved up to-now appeared as one asporogenous, while no exhaustive proof of the original sporogenicity were presented by Vuillemin. In conclusion, our strain, with the Vuillemin's strain and *E. Cruzi* (and probably *E. pulmonalis* and *E. bonaerensis*) has been considered as a variety [var. *Vuillemini* (Landrieu ex Cast. et Chalm.) nobis] of *Mycotorula albicans* (Rob.) Lang. et Tal.

Letteratura:

Ciferri R., Redaelli P e Cavallero C., Mycopathologia, *1*, (2), 115—161, (1938). — Guilliermond A., Thèse Doct. Sci., Lyon, (1902) (riassunta in Rev. Gén. Bot., *15*, 1903).

A proposito della unificazione dei generi delle „Torulopsidaceae-Mycotoruleae''

di

O. Verona.

(*Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica, R. Università, Firenze.*)

(22.II.1939.)

In una Nota di recente pubblicazione (*Mycopathologia, 2,* 1939) H. A. Diddens e J. Lodder propongono una unificazione dei generi attualmente compresi nella sottofamiglia delle *Mycotoruleae.*

Tale proposta deriva verosimilmente dalla constatazione delle difficoltà che si incontrano nell'inquadramento sistematico di tal gruppo di lieviti anascosporei; difficoltà dovute, sopratutto, alla relativa variabilità dei caratteri micromorfologici presi dalla maggior parte degli Autori a base dei relativi sistemi.

Ora, siccome nel formulare la ricordata proposta, gli Autori Olandesi sollecitano l'opinione di coloro che, per un motivo o per un altro, si occupano di questi funghi, a noi sembra doveroso di dover esprimere il nostro modesto giudizio al riguardo.

Sulla opportunità di procedere, nell'ambito delle *Mycotoruleae,* ad una riduzione generica siamo, in fondo, d'accordo con Diddens e Lodder. Di tale opportunità già ci eravamo resi conto e, in merito, già ci eravamo pronunciati allorquando tentammo di contenere alcuni nuovi generi proposti da Langeron e Talice in quelli già fissati nel sistema di Ciferri e Redaelli.

Quella nostra classificazione allora prospettata (*Nuovo Giorn. Bot. Ital., 40,* 225, 1933) era diretta, infatti, ad orientare gli studi in questo senso. Risultò che il gen. *Mycotorula* fu inteso comprensivo di *Enantiothamnus* e di *Mycotoruloides* mentre riportavamo a *Candida* il genere *Mycocandida.* Accanto a *Mycotorula* e *Candida* ponevamo provvisoriamente *Blastodendrion* e *Redaellia.*

Successivamente, accettando in parte quanto noi avevamo fissato, Ciferri e Redaelli (*Arch. f. Mikr., 6,* 1935) — poichè non è il caso di ricordare le complicazioni di von Szilvinyi (*Centr. f. Bakt.,* II Abt., *89,* 284, 1933), Dodge (*Medical Mycology,* 1935) e le modificazioni di Langeron e collaboratori — trasportavano nelle *Trichosporeae,* nuova sottofamiglia delle *Torulopsidaceae,* il genere *Redaellia* e lasciavano valido il gen. *Mycocandida.*

Concordiamo, in attesa di ulteriori studi, per quanto si riferisce a *Redaellia.* Permane nel nostro concetto l'idea di riferire a *Candida, Mycocandida.*

Ora prendiamo occasione per dire che già da tempo eravamo venuti nel convincimento di sopprimere *Blastodendrion,* genere apparso sempre di dubbio valore, e le cui specie possono trovare posto o entro *Torulopsis* od anche, forse, entro *Mycoderma.*

Di quanto si prospettava nella nostra classificazione non rimane, quindi, che *Mycotorula* e *Candida.* E, tali generi, sembra a noi che debbano essere mantenuti ritenendo pertanto azzardata la loro unificazione.

E' pur vero che alcune specie possono dare quadri dell'uno e dell'altro tipo; ma è pur vero che il fatto non è così frequente come si afferma e che è pur sempre nettamente distinguibile, in tali casi, il prevalere di un tipo sull'altro.

In ogni caso, infine, non sarebbe *Candida* che dovrebbe rimanere, ma *Mycotorula*

per essere di istituzione anteriore oltre a fissare meglio, questo termine, l'idea della peculiare caratteristica di questi lieviti anascosporei.

Concludendo, mentre riteniamo utile con DIDDENS e LODDER di dover procedere ad una semplificazione delle *Mycotoruloideae*, riteniamo altrettanto utile di dover mantenere distinto, nell'ambito di esse, i due generi *Mycotorula* e *Candida*.

Riassunto

L'A., in relazione ad una Nota di DIDDENS e LODDER relativa alla unificazione dei generi di *Mycotoruloideae*, ritiene che, nell'ambito di questa sottofamiglia di *Torulopsidaceae*, debbano essere mantenuti i generi *Mycotorula* e *Candida* pur convenendo di eliminare gli altri.

Summary

In answer to the question of unification of the genera of the asporigenous yeast with pseudomycelium, prospected by DIDDENS and LODDER, the view of the author is to mantain both *Mycotorula* and *Candida*.

Onychomycose du medius et annulaire dûe à une levure du genre *Torulopsis* Berlese 1894

par

I. Froilano de Mello et Luís António Fernandes.

(*Escola Medico-cirurgica de Nova Goa*)

(4.III.1939.)

Les onychomycoses décrites dans les livres classiques de Dermatologie se rapportent en général aux *Tricophyton* de diverses espèces et parfois aux *Achorion*. Les autres champignons qui peuvent les causer n'y trouvent, en général, que des lignes assez brèves et ne faisant qu'en signaler les divers genres. Ainsi, dans le livre de Darier (1) on lit: „on sait depuis longtemps que les lésions des ongles peuvent être produites par des *Tricophytons* de diverses espèces ainsi que par l'*Achorion schonleini*. Plus récemment on a signalé que d'autres champignons (*Oospora*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Endomyces* etc.) peuvent être les agents des mycoses des ongles." En traitant des onychomycoses, on trouve," mutatis mutandis", des constatations pareilles dans presque tous les Précis et Traités à l'usage des médecins et des étudiants en médecine.

L'avancement que l'on a donné dans les derniers ans aux études mycologiques, a fait définitivement entrer parmi les agents étiologiques des onychoses les genres botaniques suivants: *Trihophyton*, *Achorion*, *Epidermophyton*, *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Eurotium*, *Sporotrichum*. Eduardo Rabello du Brazil aurait même décrit un cas d'onychomycose dû au *Microsporon audouini* (2).

Dans les tropiques il y a lieu à faire, parmi ces agents, une place spéciale aux levures et d'autres organismes levuriformes et, aux Indes, au moins, la fréquence de ces levuroses unguéales est bien supérieure à celle des lésions des ongles causées par d'autres genres botaniques, comme les *Trihophyton* et les *Achorion*, exception faite, peut être, du genre *Epidermophyton*, très répandu dans ce climat.

Les lévuroses unguéales ne sont pas néanmoins absentes dans les climats froids: des cas isolés ont été décrits un peu partout, devant les sociétés dermatologiques: la *Mycotorula deformans* (Zach. 1933) *M. onychophila* Pollacci et Nannizzi 1926, *Blastodendrion* (*Mycotoruloides*) *globosum* Zach 1933, *M. gracilis* Zach 1933, *M. oosporoides* Zach. 1933, *M. procerus* Zach. 1933, *M. unguis* Weil et Gaudin 1919 en sont des exemples plus récents. Mc. Carnac a même décrit (3) un cas chronique avec des poussées recurrentes dû à *Oïdium albicans*.

Qu'il nous soit permis, cependant, de faire une reférence spéciale aux travaux argentins, qui, dans de nombreuses publications ont mis en relief le rôle des levures dans la production des onyxis et paronyxis humains [genres *Mycotorula*, *Geotrichoides* (spp. *tumefaciens* Fourlerton 1900, *Krusei* Castellani 1909), *Mycotoruloides*, *Candida*, *Monilia* (spp. *periungualis*, *inexpectata* Niño, Mazza et alia] (4).

Le cas que nous allons décrire est une observation de plus à joindre à tant d'autres qui s'amoncellent de tous cotés pour ériger ce chapitre interessant de Mycologie: *les lévuroses unguéales*.

Histoire clinique. E.D.; femme, environ 40 ans, internée à l'hôpital comme malade syphilitique et traitée comme telle par des injections d'un composé bismuthique et de

Néosalvarsan. Ses lésions — onyxis et perionyxis des doigts médius et annulaire de la main gauche — ne s'améliorent pas avec le traitement spécifique. On fait un „Kahn" qui se démontre négatif. Ongles friables, vermoulus, lésions periunguéales à l'aspect framboesiforme, secrétant du pus filant, jaunâtre.

Un examen extemporané du pus et des produits de raclâge de l'épiderme malade denote l'existence d'éléments levuriformes.

Cultures sur. Sab. glucosé et maltosé positives pour levures dont voici les caractères.

Sab. glucosé: Cult. abondante, blanchâtre, luisante, aspect de beurre. *Elements mycologiques:* levures elliptiques, circulaires et pyriformes; chlamidospores elliptiques ou en grain de café, à protoplasme refringent, dont le pourtour, ensemble avec la membrane de la cellule semble former un double contour. Ces chlamidospores ont environ 8/4 μ.

Sab. maltosé: idem, idem.

Gelose simple: Cult. blanchâtre devenant sèche après 48 heures et prenant à la fin d'une semaine une tonalité chamois. *Elem. mycologiques:* outres des éléments lévuriformes et des pseudo-mycèles, on trouve ici de longs filaments mycéliens, d'environ 1,5 μ de largeur. Colorées par des couleurs d'aniline quelques cellules se montrent plus fortement colorées que les autres.

Pomme de terre glycerinée en tranches: Cult. d'abord luisante, devenant, après 5 jours, cireuse, légèrement chamois, cette tonalité se prononçant de plus en plus avec l'âge. *Elém. mycologiques:* levures; grandes formations coraliformes; filaments mycéliens granuleux; pseudomycèles formés de courts articles fusiformes. Les granules intramycéliens, refrigents, lorsque libres, prennent l'aspect de spores d'une bactéridie. Colorées par la fuchsine, on voit à coté de levures prenant une tonalité rose, d'autres isolées ou en gemmation binaire, fortement teintes en couleur plutôt violace et semblant constituer des formes plus résistentes.

Pomme de terre en purée: Cult. d'abord faible, plus tard légèrement jaunâtre.

Idem glycerinée: idem.

Carotte: Cult. abondante, humide, luisante.

Carotte glycerinée: Cult. faible en forme d'un pointillé luisant.

Lait: peptonisé.

Bouillon: limpide, dépôt soyeux au fond.

Eau peptonée: idem.

Bouillon végétal: trouble, dépôt au fond légèrement brunâtre; le milieu devient plus foncé.

Milieu de Langeron: Trouble avec dépôt floconneux au fond, les flocons se dissociant par l'agitation et se collant aux parois du tube, formant à la partie supérieure un voile incomplet. *Elem. mycologiques:* levures en gemmation binaire; longs filaments mycéliens, pseudomycèles, formations coraliformes. Châpelets de levures dont la membrane est bien plus épaisse et se teint plus fortement que celle des levures isolées. Cellules en navette. Corps en raquette.

Crottin de cheval: nihil.

Grains de blé, riz, orge: nihil.

Decotin de riz: Trouble. *Elém. mycologiques:* Filaments mycéliens longs et courts, d'une largeur un peu plus grande que celle des *Nocardia*. Levures de types variés. Cellules fusiformes.

Gorodkowa: Cult. d'abord blanchâtre, plus tard couleur de chocolat. *Elém. mycologiques:* Pas d'asques. Cellules ovoïdes ou quadrangulaires. Filaments mycéliens ressemblant à des *Nocardia* (1,5 μ de largeur) et contenant des condensations protoplasmiques qui se colorent en bleu foncé par le bleu de methylène (pseudospores). Quelques filaments mycéliens courbés en S ou spiralés. Colorée par le Ziehl-Nehlsen ,on voit à coté de cellules bleues, d'autres légèrement roses, d'autres enfin à membrane franchement acido-resistente, celles-ci semblant avoir la valeur de spores. Quelques cellules se montrent aussi fortement colorées en rouge.

Ces types de coloration des éléments poussés sur *Gorodkowa* contrastent avec la coloration des cultures jeunes, âgées de 24 heures, et devoloppées sur d'autres milieux. Les éléments dans ces circonstances prennent le Gram mais ne sont pas acido-resistants.

Fermentation des sucres: Glucose A ±, Maltose A ±, Galactose A ± ; Mannite, Mannose, Saccharose, Sorbite, Lactose, Xylose, Dextrine, Inuline O.

Inoculations: Cobaye (inj. intraveineuse) nihil; *Souris* (inj. souscutanée et intrapéritonéale) nihil.

* * *

Les caractères que nous venons décrire nous authorisent à classifier cette levure dans le genre *Torulopsis* Berlese 1894 (syn. *Torula* sensu Turpin, Pasteur, Hansen, nec Persoon) Nous ne portons pas plus loin l'identification de l'espèce, faute de littérature spéciale sur le sujet et à cause du chaos qui résulte d'une désignation spécifique hâtive, fondée sur des caractères passibles d'objections par manque de règles précises pour la determination précise de ce genre d'organismes.

Traitement. Malade guérie par des sprays d'une solution très étendue d'eau d'Alibour, suivis de badigeonnages de teinture d'iode à 1/5 et de pansements humides de Lugol, démontrant ainsi la nature parasitaire et purement locale de ses lésions.

Bibliographie

1) J. Darier, Précis de dermatologie — 2) A. Lindenberg, Rev. Med. de São Paulo, (1909) — 3) Mac. Carnac, British Journ. of Dermatology, Oct. (1927) — 4) (*a*) J. E. Mackinnon, 8a Reunion de la Soc. Argentina de Pat. Regional del Norte — (*b*) Flavio L. Niño, Ibidem — (*c*) F. L. Niño y A. Egues, 7a Réunion de la Soc. Arg. de Patol. Reg. del Norte — (*d*) F. L. Niño, 5° Reunion Soc. Argent. Patol. Reg. Norte — (*e*) S. Mazza, F. L. Niño y A. Egues, Ibidem — (*f*) F. L. Niño, J. Fernandez y M. Palaut, 6a Reunion Soc. Argent. Patol. Reg. Norte.

Aspergillus terreus Thom, parásito del hombre

por

Juan E. MacKinnon.

(*Instituto de Higiene Experimental, Sección de Parasitologia, Montevideo.*)

Con una figura.

(9.III.1939.)

En el año 1918, Thom y Church designaron con el nombre *Aspergillus terreus* cepas de hongos aisladas en Estados Unidos del suelo y de materias vegetales en estado de desintegración (4). Consideran además identificables a su especie, las cepas aisladas del suelo en Texas y que Werkenthin asimiló a *Sterigmatocystis veneta*, Massalongo 1900.

Recientes observaciones personales, nos dan motivo para llamar la atención sobre las aptitudes parasitarias de *A. terreus*, describiendo nuevas cepas, aisladas en el Uruguay, de una micosis del oído externo y del medio ambiente.

Observaciones personales

Micosis del conducto auditivo externo. Hace pocos meses, el Dr. Elías Regules, envió a nuestro laboratorio una enferma en la que sospecheba una micosis del oído; dicha enferma se quejaba de dolores, de prurito del oído y de percepción de zumbidos. El examen del conducto auditivo, practicado por el Dr. Regules, mostraba descamación de la epidermis que, en algunos sitios dejaba en descubierto el cuerpo mucoso de Malpighi; en otros sitios la epidermis alterada estaba cubierta por una vegetación de aspecto aterciopelado de color blanco y con zonas amarillentas.

El examen micológico nos mostró la presencia de filamentos micelianos tabicados de 2,5 a 3,5 μ de diámetro y de conidias lisas y redondas de 2,5 μ. Estas comprobaciones ratificaron pues, el diagnóstico de micosis.

Los cultivos en gelosa Czapek dieron desarrollo en todos los tubos y en todos los puntos de siembra a colonias puras del hongo que a continuación describimos; cepa 710 de nuestra micoteca.

El micelio estéril es blanco. Al fructificar las colonias toman color amarillo-paja (*Stramineus*, 26 Saccardo); poco a poco la coloración se va acentuando hasta hacerse a los diez días marrón y luego marrón-canela (*Fulvus* 32, Sacc.) y al final color avellana (*Avellaneus*, 7 Sacc.); la coloración avellana aparece primero en las partes más altas y secas del cultivo y luego toma todo el cultivo. El aspecto general del cultivo es velloso apareciendo en algunos sitios pequeños copos algodonosos blancos. El revés adquiere luego de 15 días un color rojo-ladrillo pálido (*Testaceus*, 18 Sacc.). En gelosa Czapek se aprecia con facilidad la producción de pigmento difusible color rojo-ladrillo (*Testaceus*).

Los filamentos micelianos son tabicados y miden de 2,5 a 3,5 μ de diámetro. El conidióforo nace de células basales bien definidas por su gruesa pared; es liso; mide de 140 a 200 μ de alto pero puede alcanzar una longitud de 320 μ; su ancho varía entre 4,5 a 8 μ; su pared está ligeramente pigmentada con tonos amarillo-paja. La vesícula del conidióforo es casi esférica, mide de 9 a 17 μ y es fértil en la mitad superior. Las esterigmas se disponen en dos filas; las primarias miden de 6 a 9 μ de largo por 2 a 2,7 μ de ancho. Las esterigmas secundarias se disponen de a cuatro en cada esterigma primaria (a veces sólo de a dos o tres) y miden 5 a 7 μ de largo por 1,5 μ de ancho. Las conidias son lisas; en su gran mayoría son redondas pero hay algunas elípticas y cuando son observadas aglomeradas en grandes grupos adoptan formas poliédricas; su color es amarillo-paja o marrón cuando son vistas aglomeradas; su diámetro oscila entre 2,2 a 2,7 μ. Las conidias forman cadenas; en una cabeza aspergilar las cadenas más externas se inclinan hacia adentro haciéndose paralelas al eje del conidióforo; en consecuencia las

cabezas aparecen como columnas de conidias hasta de 200 μ de largo por 50 μ deancho. Una característica importante es el hecho de la producción de clamidoesporos laterales (Fig. 1; H, I, J y K) que se presentan como esferas de 4 a 6 μ de diámetro con una gruesa pared externa y una pared interna delicada que rodea un contenido graunloso; estos clamidoesporos se insertan en los filamentos en general por un corto pedículo pero a veces no tienen pedículo y son sentadas.

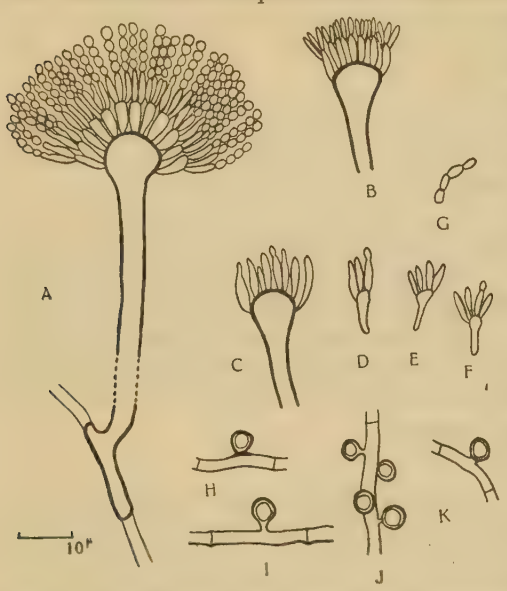


Fig. 1. Morfología de *Aspergillus terreus*, Thom 1918. Cepa 710 IHM; aislada de un caso de micosis del conducto auditivo externo. *A*-Celula basal, conidióforo y cabeza aspergilar bien desarrollada. *B*-Cabeza aspergilar joven que todavía no ha producido conidias. *C*-Cabeza aspergilar más joven aun que recién ha producido las esterigmas primarias. *D*, *E* y *F*-Esterigmas primarias dando inserción a tres y cuatro esterigmas secundarias. *G*-Conidias en cadenas. *H*, *I*, *J* y *K*-Clamidoesporos laterales.

La temperatura óptima de cultivo se halla entre 30 y 37 grados centígrados; crece menos bien a 42 grados y muy mal a 45 grados.

Nuestra cepa no es patógena para la paloma por vía sub-cutánea y por vía intravevosa aun cuando es inoculada en dosis masivas. Les palomas sacrificadas a los 15 días de inoculadas por vía intravenosa no presentaban lesiones mientras que la palomas inoculadas con la misma dosis de *Aspergillus fumigatus* morían en menos de dos días.

Un conejo inoculado por vía intraperitoneal no presentó síntomas de enfermedad y sacrificado a los 15 días no presentaba lesiones. En los conejos inoculados por vía subcutánea se producen nódulos y abcesos en el punto de inoculación que poco a poco se reabsorben. Un conejo inoculado por vía intravenosa con dosis masiva se presentó abatido durante dos días; sacrificado a los 10 días se comprobó granulaciones numerosas en ambos pulmones; estas granulaciones contenían una pequeña cantidad de pus caseoso en el que se comprobó la presencia de esporos de hongos y los retrocultivos dieron desarrollo a *A. terreus*. Este último resultado indica una débil pero evidente acción patógena experimental.

Cepas aisladas del medio ambiente. Del medio ambiente hemos aislado cuatro cepas que no difieren macroscópicamente ni microscópicamente de la aislada del oìdo. Estas cepas fueron aisladas: una del suelo, otra crecìa sobre un trocito de cuero húmedo y las otras dos crecieron en tubos de cultivo con gelosa glucosada y peptonada dejados abiertos al aire. Una de estas dos últimas cepas mostró una virulencia experimental idéntica a la de la cepa del oído. Las cepas aisladas del medio ambiente tampoco difieren de la aislada del oìdo por su temperatura óptima de cultivo.

Nuestras observaciones permiten concluir que *Aspergillus terreus* es una especie común en nuestro medio ambiente.

Consideraciones

Identificación de nuestras cepas. Las cepas que acabamos de describir no difieren de las que Thom denomina *Aspergillus terreus*. Su coloración es muy caracterìstica asi como su aspecto microscópico. En la descripción de Thom no figuran los clamidoesporos laterales, quizás por omisión o por considerarlos de importancia secundaria para la caracterización de una especie. Creemos pues en la identidad de nuestras cepas con la especie de Thom.

Es posible que *A. terreus* haya sido visto antes y bautizado con otros nombres. *Sterigmatocystis veneta* Massalongo 1900, tiene caracteres microscópicos algo semejantes a los de *A. terreus*, pero no parece haber sido cultivado y sus colonias fueron descritas como poseyendo color amarillo,; sería muy peligroso y aventurado sostener la identidad de nuestras cepas con *S. veneta*; no es lo mismo con *A. terreus*, pues ha sido cultivado y podemos colocarnos en igualdad de condiciones para hacer estudios comparaticos.

Sinónimos de Aspergillus terreus. Thom y Church (5), consideran como un probable sinónimo la especie hallada en las Indias Holandesas y bautizada por Amons con el nombre *Aspergillus fuscus. Aspergillus terreus* tendrìa una vasta distribución geográfica. Igualmente consideran probable que *Sterigmatocystis Hortai* Langeron 1921 aislado de un caso de micosis del conducto auditivo externo en el Brasil (1), sea una cepa o a lo sumo una variedad de *A. terreus*. En el año 1932, tuvimos ocasión de demostrar (2) lo acertado de esta opinión pues comprobamos que las diferencias microscópicas que existían entre las descripciones de *S. hortai* y *A. terreus* eran debidas a las condiciones diferentes en que habìan sido estudiadas. Demostramos en nuestra publicación que el cultivo en célula por los métodos clásicos es inapropiado para el estudio de muchos hongos que creciendo en una reducida cantidad de medio nutritivo y en una limitada atmósfera no llegan a adquirir un desarrollo completo, lo que se manifiesta en *S. hortai* por las dimensiones menores de la vesìcula y de las esterigmas primaria. La cepa Langeron de *A. terreus* difiere de las habituales por su aspecto algodonoso; hemos comprobado en 6 años de observación que este aspecto se acentúa con el tiempo haciédose cada vez más escasos los órganos de fructificación; se trata pues de una degeneración pleomórfica.

Muy semejante a *A. terreus* consideramos a *Sterigmatocystis cinnamominus* Weiss 1930, aislado en el Perú de una pitiriasis versicolor flava. Llama la atención las semejanzas de la descripción de Weiss con el aspecto de nuestras cepas; se trata de semejanzas en el color de las colonias y en la estructura microscópica y sobre todo en la producción de clamidoesporos laterales (esporos externos de Weiss). Es dificil sino imposible formares una opinión exacta sobre la acción patógena de la cepa de Weiss en el caso por él estudiado; mayores datos clìnicos, parasitológicos y experimentales serìan necesarios.

Resumen y conclusiones

1°. *Aspergillus terreus* Thom 1918, es capaz de parasitar al hombre produciendo micosis del conducto auditivo externo.

2°. *Aspergillus terreus* es una especie de hongo muy comun en nuestro medio ambiente. Lo hemos hallado en el suelo, creciendo sobre cuero húmedo é infectando tubos de cultivo abiertos a la atmósfera.

Summary

Aspergillus terreus. Thom 1918, is able to parasitize man. We found it in the ear of a woman. It is a very common mold of our environment.

Bibliografia

1) Langeron M., Bull. Soc. Path. Exot., **15**, 383—384, (1922) — 2) MacKinnon J. E., Arch. Soc. Biol., Montevideo, **4**, 4 pp., (1932) — 3) Saccardo P. A., Chromotaxia seu nomenclator colorum, Patavia, (1891) — 4) Thom Ch. and Church M., Amer. J. of Bot., **5**, 84—104, (1918) — 5) Thom Ch. and Church M., The Aspergilli, The Williams a. Wilkins Comp. Ed., Baltimore, (1926) — 6) Wehmer C., Mem. Soc. Phys. Hist. Natur. Genève, II partie, 160 pp. (1901) — 7) Weiss P., Ann. de Parasit,. **8**, 189—193, (1930).

Isolamento di Schizomiceti cellulositici, Attinomiceti, Eumiceti dall' intestino delle Termiti e ricerche sulla attivita' cellulositica degli Attinomiceti

dei

Onorato Verona e Elio Baldacci.
(*Ist. di Microbiologia, R. Università di Pisa e R. Laboratorio Crittogamico di Pavia*)

Con tavola XX.

(10.II.1939.)

E' noto come in alcune Termiti (Famiglia Termitidae) sia presente una ricca flora e fauna microbica, localizzata particolarmente nei tratti dell'intestino posteriore (postventricolo, vestibolo, intestino largo, intestino cieco, colon, retto.) Questi microrganismi, studiati da varii AA. sono riferiti a specie di Protozoi, Schizomiceti ed Eumiceti; la loro presenza é stata oggetto d'indagine nei rapporti con il metabolismo di questi insetti.

Le nostre attuali ricerche intendono portare un contributo allo studio del metabolismo della cellulosa da parte delle Termiti, metabolismo che é effettuato solo in grazie della presenza della ricca flora microbica ricordata, ma vi è divergenza di vedute a quali microrganismi animali o vegetali sia attribuibile tale attività. Difatti Cleveland (6) e Dickman (8) pervenivano a resultati negativi circa la presenza di Schizomiceti cellulositici nell'intestino delle Termiti, mentre Beckwith e Rose (4) pur constatando una attività cellulositica nella flora batterica presente, non riuscivano ad isolare i microrganismi. Sulla scorta delle indagini di Cleveland, Trager (21) asseriva la presenza di una cellulasi secreta dai Protozoi simbionti delle Termiti. D'altro canto, la presenza di funghi del genere *Trichoderma*, nell'intestino delle Termiti, illustrati particolarmente dalla Hendee (11), e il nostro reperto di Attinomiceti (3) pure presenti nell'intestino delle Termiti, germi tutti ritenuti ad attività cellulositica, ponevano il problema in termini assai vasti ed interessanti.

Esponiamo in primo luogo le nostre ricerche; mentre nella discussione dei resultati diremo più particolarmente delle altrui, confrontandone gli esiti con quanto interessa al nostro riguardo.

Materiale e tecnica usata

Il materiale legnoso invaso da Termiti proviene dalla campagna Romana ed é costituito da tronchi di alberi. Le specie di Termiti presenti sono riferite a *Reticulitermes lucifugus* e *Calotermes flavicollis*. Ringraziamo il Prof. C. Jucci, direttore dell'Istituto di Zoologia della R. Università di Pavia, che ci forní detto materiale e determinò cortesemente le specie indicate. Altro materiale di studio fu costituito da detriti legnosi ed escrementizi di scaffalature invase da Termiti, proveniente da Biblioteche dell'Italia Meridionale, fornitoci dal Prof. A. Gallo, direttore del R. Istituto di Patologia del Libro, ed al quale vanno i nostri ringraziamenti.

Gli isolamenti sono stati effettuati insemenzando l'intero intestino posteriore, o

parte di esso, di insetti sia allo stato adulto, sia allo stato ninfale. L'intestino veniva estratto per stiramento dal ventre con ago sterile. Si procedé pure alla dissezione degli insetti e si insemenzò il contenuto dell'ampolla cecale a parte. Infine, si usò per le semine il liquido fuoriuscito dall'animale, grazie ad una leggera compressione esercitata su di esso e raccolto su vetrino portaggetti sterile. In tutti i casi si ebbe l'avvertenza di sterilizzare all'esterno le Termiti; immergendole rapidamente in una soluzione alcoolica di bicloruro mercurico al $2^0/_{00}$.

Si usarono i comuni terreni all'agar per gli isolamenti di Attinomiceti ed Eumiceti, mentre per la ricerca di cellulositici si fece uso della tecnica ideata da Winogradski (26) su piastre al silicogele, come l'unica oggi adatta per il sicuro accertamento ed isolamento di germi cellulositici.

Isolamenti e colture

Schizomiceti cellulositici. (fig. 1, 2, 3) Nelle piastre al silicogele allestite con la tecnica di Winogradsky, si ottenero colture riferibili al genere *Cytophaga*, e più raramente al genere *Cellvibrio*. Questi risultati sono costanti, sia con le varie modalità d'inoculo, sia con il vario materiale sopraelencato.

Per quanto riguarda l'isolamento dall'intestino delle Termiti occorre tuttavia avere l'avvertenza di procedere ad inoculi abbondanti di materiale, e ciò in armonia con quanto é noto sulla biologia di tali forme, le quali si mettono in evidenza molto bene seminando con dosi massive. Noi stessi dovemmo constatare un insuccesso nelle prime colture, effettuate con troppo scarso materiale.

E' opportuno segnalare che esiti positivi di colture di *Cytophaga* si ebbero pure anche con il legno attaccato dalle Termiti, e, ciò che ha ancora più importanza, con i boli fecali degli insetti. Le Termiti possono essere cosí i vettori dei germi cellulositici, nei riguardi dei danni che questi producono sui libri [Verona (22)] e poiché essi possono preesistere anche sulla carta [Verona (23)] un circolo di queste forme é possibile anche al di fuori del terreno. Ciò interessa particolarmente la conservazione dei libri nelle biblioteche.

Attinomiceti. Le colture furono ottenute con relativa facilità sui comuni terreni all'agar. [1]) Le forme isolate appartengono al genere *Actinomyces*, ed hanno il caratteristico odore di muffa assai netto. Mentre lo studio delle singole specie é rimandato alle ricerche che uno di noi [Baldacci (2)] sta svolgendo su questi germi, qui é opportuno dire che si tratta in prevalenza di ceppi di *Actinomyces albus*, *Actinomyces griseus*, *Actinomyceus violaceus*. Specialmente per queste due ultime specie la sistematica é assai confusa, moltissime essendo le specie con vegetazione aerea grigia o cinerea facenti capo a quello che molto impropriamente si chiama il gruppo del „griseus" o anche „scabies", mentre sono state descritte due o tre specie riferibili o simili alla prima descrizione di Rossi-Doria dell'*Act. violaceus*. Rimandiamo a questo proposito a quanto ha scritto uno di noi [Baldacci (1)].

Solo una specie, isolata a più riprese, si presenta con caratteristiche che non ci risultano finora descritte nella bibliografia di questi microorganismi. Essa presenta un micelio vegetativo di color nero ed un micelio aereo sporificato di color cacao. Non pigmenta il terreno mentre i colori delle colonie appaiono costanti. Produce spirali assai lunghe e

[1]) Formula usata: acqua 1000; peptone: 10 gr.; estratto di carne: 5 gr.; NaCl 5 gr.; agar 20 gr.; glicerina 10; pH = 7,0—7,2.

ben sporificate. Le colture tramandano debole odore di muffa. Anche questa specie sarà oggetto di nostre ricerche e pertanto la contrassegnamo per il momento come „*Actinomyces* sp. ceppo HA.".

Tutti i ceppi di attinomiceti isolati, che contrassegneremo nel contesto (vedi pag. 133) con sigle, furono coltivati su piastre al silicogele per lo studio della attività cellulositica.

Eumiceti: Le forme di Eumiceti isolati su terreni all'agar (terreno Pollacci) non presentano che scarso interesse, trattandosi di specie dei generi più diffusi, come *Penicillium, Scopulariopsis, Mucor, Alternaria, Dematium* ecc.

E' da rilevare il mancato isolamento di *Trichoderma*, che nelle ricerche già ricordate della Hendee (11) si dimostra, con i *Penicillium*, assai diffuso.

La presenza dei funghi nell'intestino delle Termiti non ha importanza, a nostro avviso, nel problema del metabolismo della cellulosa degli insetti o lo ha solo indirettamente. L'azione dei funghi e particolarmente del *Trichoderma*, che stando alle ricerche di Waksman (24), mostra una notevole attività cellulositica, si esplica sul legno ma allorché questo non é ancora ingerito dalle Termiti. Sui tronchi e sul legname in via di deterioramento lo sviluppo che possono prendervi i funghi é notevole, facilitato dalle condizioni ambientali di umidità (acqua piovana); e notevoli o almeno discrete possono essere le alterazioni prodotte e le decomposizioni. Ma l'azione dei funghi é fortemente ostacolata od addirittura impedita allorchè il legno é ingerito in piccoli frammenti dalle Termiti, sia dall'innalzamento del punto di acidità, che per le Termiti oscilla nei vari tratti dell'intestino fra pH = 5.0 e 6.8 [cfr. Kofoid (15)] e più secondo altri AA, mentre é noto come l'attività del *Trichoderma* e dei funghi si esplichi in mezzo molto acido, sia dalla rapidità di digestione delle Termiti, a cui si contrappone la lentezza dell'azione dei funghi. D'accordo quindi con i resultati ai quali sono arrivati vari AA., si può ritenere che i funghi hanno un ruolo nella dieta delle Termiti, per quanto riguarda le modificazioni che essi apportano nel legno prima che questo diventi cibo delle Termiti, e che essi vengano introdotti nell'intestino con il legno stesso costituendo una fonte di proteine e forse di vitamine [Hendee (11)]. Ciò concorda con la maggiore mortalità che si riscontra nelle Termiti allevate a dieta di cellulosa pura o sterilizzata. [Kofoid (15)].

Ricerche sulla attività cellulositica degli Attinomiceti

Nella bibliografia microbiologica gli Attinomiceti sono comunemente designati come germi ad attività cellulositica. Le prime affermazioni a questo riguardo risalgono al Krainsky (16) il quale isolò e descrisse varie specie di Attinomiceti dal terreno, e ne saggiò l'attività sulla cellulosa coltivandoli in soluzioni minerali contenenti frammenti di carta da filtro. A questo A. si deve infatti un *Actinomyces cellulosae* ed altre specie, come l'*Act. melanosporeus* e l'*Act. melonocyclus*, tutte ad asserita attività cellulositica. Uno di noi [Baldacci (2)] ha già avuto occasione di avanzare dubbi sulla vera entità di quest'ultima specie, ritenendo che le colture del Krainsky fossero contaminate da Batteri o da autentiche forme cellulositiche. Così l'*Act. melanosporeus* ristudiato da uno di noi [Baldacci (2)], mentre corrisponde nei caratteri morfocolturali alla descrizione di Krainsky, non manifesta, posto nelle stesse condizioni, alcun potere di attaccare la carta da filtro. Più tardi il Waksman (24) saggiò l'attività sulla cellulosa di alcuni Attinomiceti giungendo a concludere che questa é di gran lunga più debole di quella dei funghi (*Trichoderma* e *Aspergillus*) e della *Cytophaga Hutchinsonii*. Si noti che il metodo usato da questo A. é ancora quello della carta da filtro in soluzioni minerali.

Gli isolamenti effettuati da noi di germi cellulositici (*Cytophaga*) e di Attinomiceti ci riponeva nuovamente il problema della attività cellulositica di quest'ultini. Decidemmo pertanto di saggiare con il metodo di Winogradsky, i ceppi di *Actinomyces* isolati dall'intestino delle Termiti, e di altri in nostro possesso, nonchè dell'*Actinomyces cellulosae* rimessoci cortesemente dal Centraalbureau voor Schimmelcultures di Baarn, che vivamente ringraziamo. Diamo qui a seguito l'elenco dei ceppi saggiati:

Actinomyces albus: ceppo M 1; ceppo O 5; ceppo O 3; ceppo Ba 1; ceppo O 6; ceppo C 13 R5; ceppo A P 1; ceppo O 2;

Actinomyces griseus. ceppo conservato nella Micoteca del R. Laboratorio Crittogamico.

Actinomyces sp. ceppo Lo 2;

A questi sono da aggiungere i ceppi isolati dalle Termiti e cioé:

Actinomyces albus, ceppo N.7R, isolato dall'intestino di *Reticulitermes lucifugus*.

Actinomyces albus, ceppo S, isolato da legno attaccato dalle Termiti.

Actinomyces griseus ceppo N.7R, isolato come il corrispondente *Act. albus*.

Actinomyces violaceus, ceppo N.1R, e N.3R; isolati dall'intestino di *Reticulitermes lucifugus*.

Actinomyces sp; ceppo a(C), e ceppo 4 A; isolati dall'intestino di *Calotermes flavicollis*.

Infine, l'*Actinomyces cellulosae*, di cui si é detto sopra e che costituisce un trapianto dell'originale di Krainsky. L'elenco qui riportato é fatto esclusivamente per designare i ceppi che saranno oggetto di ulteriori contribuzioni, a seguito di quelle effettuate da uno di noi, poiché agli effetti della ricerca sull'attività cellulositica tutti i ceppi hanno dato esito completamente negativo.

Le colture furono effettuate su piastre al silicogele, sopra le quali portammo del materiale, talora abbondante, per stimolarne la crescita, e proveniente da colture su agar. Coltivammo in termostato per oltre un mese ma senza resultato, come si é detto, non riuscendo ad ottenere un qualsiasi sviluppo. Altri saggi furono effettuati con il metodo indicato da Krainsky (16), coltivando su carta da filtro immersa in una soluzione minerale cosí costituita: K_2HPO_4: 0,1 gr.; $(NH_4)_3PO_4$: 0,5 gr.; acqua 1000. Non si ebbero resultati ad eccezione di un ceppo di *Act. albus*, della Micoteca del Laboratorio Crittogamico e del *Proactinomyces Lieskei* (Puntoni) Bald., i quali, pur sviluppando leggermente, non dimostrarono di intaccare la carta da filtro. In queste condizioni l'*Act. melanosporeus*, di nostro isolamento, lascia la carta leggermente corrosa, ma senza colorarla, come asserisce Krainsky. Non fu sperimentato l'*Act. cellulosae*.

Discussione dei risultati e conclusione

E' noto come nella generalità dei casi, il problema della cellulosa si risolve per mezzo di una correlazione funzionale tra animali e microrganismi, tra i quali sono da porsi in primo luogo gli Schizomiceti, la cui azione cellulositica é rapida e profonda. A questi si riferiscono, per quanto é stato finora segnalato, forme aerobiche ed anaerobiche. Fra quest'ultime é da porsi il *Bac. cellulosae dissolvens* isolato dall'intestino umano da Y. Khouvine (14); il *Bacillus cellulosam fermentans* descritto da E. Werner (25), che lo isolò da larve di *Ptosia cuprea*; il *Pectridium cellulolyticum*, isolato da vari Ruminanti da Pochon (19). La specie isolata da Khouvine produce acido butirrico, quelle isolata da Pochon, acido formico, acetico, e in minore quantità propionico, e si discostano ambedue notevolmente dalle prime specie cellulositiche isolate e descritte da Omelliansky (20). Tra il gruppo degli aerobi rientrano le specie segnalate da Winogradsky (26) appartenenti ai generi *Cytophaga, Cellvibrio, Cellfalcicula*, isolate dal terreno e suc-

cessivamente ritrovate da vari AA. nel letame, nel rumine e nelle feci dei bovini e in mezzi diversi: numerosi sono gli studi sulla digestione xilofaga degli insetti a mezzo di batteri simbionti, ma riteniamo qui inutile soffermarvici.

Nelle Termiti la ricerca di germi cellulositici fu effettuata negativamente da Cleveland (6) e da Dickman (8). Il Cleveland non fece uso delle tecnica di Winogradsky, e, rilevando la presenza di frammenti di legno nell'interno dei Protozoi, come era già stato osservato dai nostri Grassi (9-19) Buscalioni e Comes (5), finí con l'attribuire il compito di digerire la cellulosa ai Protozoi.

Dickman più tardi riusciva e constatare la presenza di Batteri cellulositici, nel legno attaccato dalla Termiti, con la coltura su piastre al silicogele, ma poiché tale ricerca era negativa con le semine di liquido e con porzioni dell'intestino degli insetti, l'A. concludeva negativamente nei riguardi dell'importanza di questi germi nella digestione della cellulosa da parte delle Termiti. Prima di questo A., Beckvith e Rose (4) erano riusciti a mettere in evidenza una attività cellulositica dovuta a Batteri su colture fatte su soluzioni minerali e carta da filtro. Questa attività era manifesta in 11 saggi su 85 eseguiti in condizioni di aerobiosi. Tuttavia i tentativi per isolare e coltivare i microrganismi fallirono tutti; come pure le colture poste in condizioni anaerobiche non manifestavano attività cellulositiche. Le osservazioni al microscopio permettevano ai due AA. di asserire che la flora cellulositica era costituita da forme a bastoncino gramnegative e da micrococchi, e che erano da escludere le Spirochete e i Protozoi. Dickmann, già ricordato, impugnava questi resultati criticando il metodo di sterilizzazione all'esterno delle Termiti, eseguito con tintura di iodio (U.S.P.) per 45 secondi. La breve esposizione e il formarsi di bollicine d'aria durante l'immersione, non era sufficiente, al dire del Dickmann, a sterilizzare sicuramente l'esterno delle Termiti, nelle quali si sarebbero trovati presenti i Batteri cellulositici, provenienti dal legno.

A nostro avviso il difetto delle esperienze di Beckvith e Rose, sta nell'aver fatto uso di una tecnica insufficiente per mettere in evidenza le forme cellulositiche, quando oramai gli studi di Winogradsky dimostravano la superiorità e la completezza del metodo da lui stesso ideato. Che se poi l'osservazione di Dickman fosse nel giusto, circa l'insufficiente sterilizzazione esterna delle Termiti, le colture avrebbero dovuto dare più facili e più abbondanti saggi positivi, data la grande presenza di germi cellulositici all'esterno delle Termiti.

Le nostre ricerche dimostrano oramai indiscutibilmente la presenza di questi microrganismi nell'intestino delle Termiti e nei loro escrementi, e ci fanno concludere che anche in questo caso la correlazione funzionale nella digestione della cellulosa si esplica attraverso la simbiosi degli Schizomiceti cellulositici.

Questi resultati appaiono in contrasto con alcune ricerche di Cleveland (6) e con quelle di altri AA. che alle ricerche di Cleveland si ispirarono. Vale quindi la pena di esaminarle attentamente.

Cleveland (6) in una serie di lavori dimostrava che é possibile defaunare le Termiti con vari accorgimenti e che le Termiti così defaunate muoiono, dopo 10—20 giorni, per incapacità di digerire la cellulosa. La vita é, difatti, prolungata o addirittura ne è scongiurata la morte, se si alimentano le Termiti defaunate con zuccheri come era stato sperimentato già da Montalenti (17) o se si somministra legno attaccato da funghi, Attinomiceti e Batteri, aventi, cioè, la cellulosa in qualche modo già degradata. Altre osservazioni collaterali inducono l'A. a concludere che é probabile, se non certo, che le Termiti dipendono dai Protozoi per la digestione del legno. Tali considerazioni erano rafforzate dall'esito negativo delle ricerche intraprese dall' A. stesso nei riguardi dell'isola-

mento di Schizomiceti e Funghi cellulositici dall' intestino delle Termiti. Ulteriori lavori illustrano il metodo di cattura da parte dei Protozoi intestinali, delle particelle di legno e la possibilità di mantenere in vita le Termiti, con i Protozoi simbionti, a mezzo di una dieta di pura cellulosa. Infine, in un ultimo lavoro, l'A., svolgendo altre considerazioni sulla simbiosi fra Termiti e Protozoi, é indotto ad accettare la possibilità che le Spirochete delle Termiti, aderenti ai flagelli dei Protozoi, abbiano un ruolo nelle digestione della cellulosa, sulla scorta dei lavori di Holland (12) e di Damon (7). In un „addendum" al lavoro stesso per altro Cleveland asserisce di aver potuto allontanare le Spirochete dall'intestino delle Termiti e di aver potuto mantenere in vita le Termiti stesse. Ciò dimostrerebbe a detta dell'A., la scarsa importanza di queste forme e la predominante azione dei Protozoi nella digestione della cellulosa.

Sulla scorta dei lavori del Cleveland, Trager (21) effettuò nuove ricerche. In un primo lavoro riferisce sull'isolamento di una cellulasi complessa (cellulasi e cellobiasi) dai Flagellati simbionti delle Termiti e del *Cryptocercus punctulatus*. In un secondo lavoro é precisato, circa le Termiti, come sia riuscito ad effettuare la coltura di *Tricomonas termopsidis*, da *Termopsidis angusticollis*, e di *Trichomonas* sp. da *Reticulitermes flavipes* e *Tricercomitus termopsidis* da *Termopsis angusticollis*. Di questi microrganismi solo il primo possiede una attività cellulositica.

Tuttavia l'impossibilità di ottenere questo Protozoo libero da Batteri nelle colture, pone una riserva agli esiti ottenuti dall'A. Difatti, se nel primo lavoro egli scriveva che tali Batteri saggiati sulla cellulosa (ma non con il metodo di Winogradsky) si mostravano incapaci di attaccarla mentre fermentavano il glucosio, nel lavoro successivo é precisato che la coltura del *Trichomonas termopsidis* era ottenuta solo usando cellulosa e che lo sviluppo del Flagellato non si aveva se questa era sostituita con cellobiasi, amido, destrina, inulina, glicogeno, agar, cellulosa triacetata, cellobiasi ottoacetata. Sotto questo rispetto, scrive lo stesso A., il Protozoo si mostra più vicino a certi Batteri cellulositici del tipo *Cytophaga*.

A questo punto ci soccorrono le ricerche di Pierantoni (18). Questo A. mette in luce per primo con ricerche citologiche la presenza di simbionti endocellulari nei Flagellati delle Termiti, particolarmente delle specie *Reticulitermes lucifugus* e *Calotermes flavicollis*, che sono le due specie più frequenti in Italia. Tali simbionti sono riferiti a Batteri e sono facilmente isolabili e coltivabili, a detta dell'A., il quale ritiene che a mezzo di questi, i Flagellati effettuino la decomposizione della cellulosa del legno ingerito. Nel *Calotermes*, inoltre il Pierantoni, mette in evidenza uno strato batterico aderente alle pareti dell'ampolla cecale. Con la defaunazione, tale strato tende ad aumentare e rendersi maggiormente visibile. Questi fatti acquisiti dall'A. trovano nelle nostre ricerche una riprova la quale potrà essere maggiore e, forse, definitiva se si potramo saggiare queste forme isolate sulle piastre al silicogele. Difatti é evidente come un esito positivo delle colture di Batteri del corpo del Flagellato e dello strato epiteliale dell'ampolla cecale, con il metodo di Winogradsky, potrà portare in luce la vera natura di questi germi.

La simbiosi tra Flagellati e cellulositi spiegerebbe i resultati di Trager detti sopra, e quelli di Cleveland, sulla morte per defaunazione delle Termiti. Allo stato dei fatti essa appare tutt'altro che improbabile. Che poi la simbiosi possa effettuarsi anche o parzialmente direttamente fra Termitidi e Batteri risulta, oltre che dalle citate ricerche di Pierantoni, da quelle di Jucci (13) sulla presenza di batteriociti nel *Mastotermes*, analogamente a quanto si riscontra nei Blattidi. Questo A. esclude peraltro la presenza di batteriociti nel *Termes lucifugus* e nel *Calotermes flavicollis*.

Volendo riepilogare e schematizzare, la nutrizione idrocarbonata delle Termiti

sarebbe effettuata attraverso queste fasi: *a*) ingestione del legno da parte delle Termiti e cessione parziale ai Protozoi; *b*) degradazione della cellulosa del legno da parte dei Batteri aderenti alle pareti intestinali (ampolla cecale); *c*) degradazione da parte dei simbionti dei Flagellati; *d*) cessione dei prodotti degradati alle Termiti attraverso l'assorbimento intestinale e la protozoofagia. Le fasi di cui in *b*) e *c*) sebbene assai probabili richiedono, come si é detto, una riprova colturale per la definitiva accettazione. Solo se questo controllo fosse negativo, allora si potrebbe accettare l'ipotesi che, in effetti, alcuni Protozoi possano attaccare la cellulosa e vivere alla stregua degli Schizomiceti cellulositici.

Per quanto riguarda gli esiti delle ricerche sulla attività cellulositica degli Attinomiceti, si deve osservare che esse trovano conferma nelle osservazioni di Winogradsky (26). Questo A. aveva già rilevato come negli isolamenti su piastre allestiti secondo la sua tecnica non sviluppassero Attinomiceti, i quali invece vi crescevano se si aveva cura di aggiungere alle piastre al silicogele materia umica. Poiché questi germi erano gli unici a sviluppare in queste condizioni, se si eccettuano alcune forme batteriche particolari, Winogradsky ne deduceva che „les actinomycètes s'accommodent des matières humiques comme seul aliment, lesquelles sont à considérer comme le résidu des actions microbiennes sur la substance des végétaux. Ces organismes se contentent donc du rebut des autres, et cette conclusion s'accorde bien avec le fait du développement extrêmement lent qui leur est propre et qui les met en état d'infériorité évidente dans toutes les compétitions autour de la matière énergétique." Se quindi in Natura gli Attinomiceti esplicano una qualche azione sulla cellulosa, essa si esercita forse sulle fasi ulteriori (ad es. emicellulose). In ogni modo é da escludere un loro intervento a favore delle Termiti nell'intestino delle Termiti stesse.

Riassunto

Gli AA. sono riusciti ad isolare, per la prima volta, Schizomiceti cellulositici del genere *Cytophaga* ed Attinomiceti del genere *Actinomyces*, dall'intestino delle Termiti. Sono altresí isolate alcune specie fungine, come era già noto. Gli Attinomiceti isolati non dimostrano di possedere capacità di attaccare la cellulosa, analogamente a quanto accade per altri ceppi di diversa provenienza degli stessi microrganismi.

Gli AA. confrontano e discutono i loro resultati con quelli di altri AA. tendenti ad attribuire ai Protozoi simbionti delle Termiti una attività cellulositica, che ad essi non sembra sufficientemente provata. Gli AA. ritengono che tale attività si debba, invece, attribuire ai Batteri simbionti dei Protozoi e a quelli aderenti alle pareti dell'intestino delle Termiti stesse.

Summary

From the intestinal apparatus of the Termites were isolated, for the first time, cellulositic bacteria of the genus *Cytophaga*, in addition to ray-fungi of the genus *Actinomyces* and species of true fungi previously known. The cellulositic activity of *Actinomyces* has not been, instead, experimentally demostrated.

The results obtained are discussed in relation to the presumed cellulositic activity of Protozoa symbiotic of the Termite ants.

Fig. 1

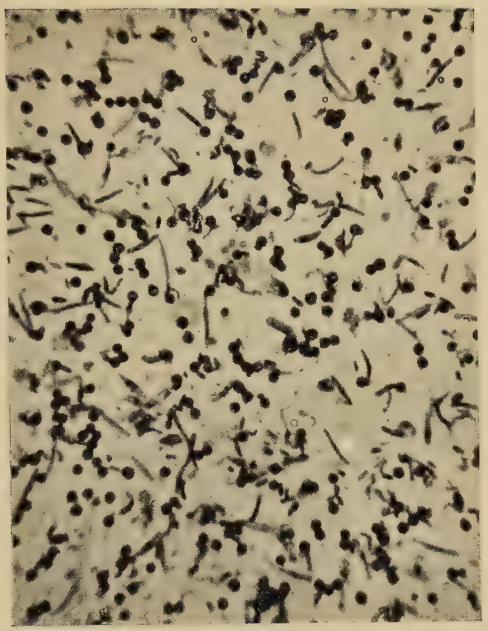


Fig. 2

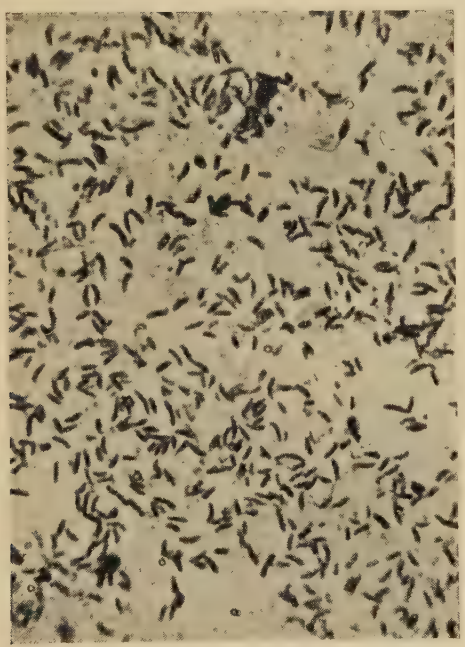


Fig. 3
Forme di schizomiceti cellulositici rinvenute nell'intestino delle Termiti.

Bibliografia

(1) Baldacci, E., Boll. Sez. Ital. Soc. Int. Microbiologia, **5**, maggio (1937); (2) Baldacci, E., Atti Ist. Bot. Pavia, serie IV, **10**, 321—329, (1938); Mycopathologia **1**, 271—272, (1938); (3) Baldacci, E., Boll. Soc. Ital. Biologia Sper., **13**, 1187—1188, (1938) — (4) Beckwith, T. D. e Rose, E. J., Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **27**, 1, (1929) — (5) Buscalioni, L. e Comes, S., Atti Accad. Gioenia Sci. Nat., Catania, s: V, **3**, 1—15, (1910) — (6) Cleveland, L. R., Biol. Bull. XLVI, 178—201, 203—227, (1924); ibidem XLVIII, 282—288, 289—293, 295—208, 309—326, (1925); ibidem LIV, 231—237, (1928) — (7) Damon, S. R., Journal. Bact., **11**, 31—36, (1926) — (8) Dickmann, A., Biol. Bull. **61**, 85—92, (1931) — (9) Grassi, B., Mem. R. Accad. Lincei, **12**, (5) — (10) Grassi, B., e Foa, A., Rend. Acc. Lincei, **18**. — (11) Hendee, E. C., Science, n.s., **77**, 212, (1933); **80**, 316, (1934) e Hilgardia **9**, 499, (1935) — (12) Hollande, A. C., Arch. Zool. Exper. et Gen., Notes et Revue. **61**, 23—28, (1922) — (13) Jucci, C., Mem. R. Acad. Lincei, **14**. (5), 1—235, (1923) — (14) Khouvine, Y., C. R. Soc. Biol., **94**, (1926) — (15) Kofoid, C. A. ecc., Termites and termite control, (Berchley) (1934) — (16) Krainsky, A., Centralb. f, Bakt., II Abt., **41**, 649—688, (1914) — (17) Montalenti, G., Rend. R. Acc. Lincei, **6**, (6), (1927) — (18) Pierantoni, U., Arch. Zool. Ital. **22**, 135—173, (1936) — (19) Pochon, J., Ann. Ist. Pasteur, **55**, (1935); C. R. Acad. de Scienc., 202, (1936); C. R. Soc. Biol. **125**, (1937), id. **126**, (1937), id. **127**, (1938) — (20) Omeliansky, V., C. R. Ac. de Scienc., **121**, 653, (1895); Centr. Bakt., II Abt., **8**, 193, (1902); **11**, 369, (1903), **12**, 33, (1904) — (21) Trager, W., Biochem. Jour., **26**, 1762, (1932); Biol. Bull. **46**, 182—190, (1934) — (22) Verona, O., Accademie e Biblioteche d'Italia, anno XI, (1937) — (23) Verona, O., Bull. Soc. Int. Microbiologia (Sez. Ital.), **10**, 91—92, (1938) — (24) Waksman, S. A., Principles of soil microbiology, (1932) — (25) Werner, E., Centr. Bakt., II Abt., **67**, 297—330, (1926) — (26) Winogradsky, S., Ann. Ist. Pasteur, **39**, 348, (1925); **43**, 559, (1929); **48**, 91, (1932) —

Bibliographia Mycopathologica II

(1938)

Acanfora G., Osservazioni sulle proprietà fermentative di alcuni saccaromiceti isolati dalla buccia di banana e da datteri. Athena, *7*, (6), 349—351, (1938).

Ambrosioni P., Contributo allo studio delle onicomicosi da blastosporee. G. ital. di Dermat. e Sifil., *79*, (3), 671—676, 1 pl., (1938) [(*Mycotorula krusoides* (Cast.)].

Akiyoshi M., Arimiti T. und Nakamoto T., Beitrag zur Kenntnis der experimentellen Aktinomykose. III Mit.: Insbesondere ueber Impfersuche bezüglich der Pathogenität der aeroben Aktinomyzeten. Trans. jap. pathol. Soc., *28*, 102, (1938).

Anderson N. P., Dermatophytosis (hands, feet and toe nails) due to *Trichophyton purpureum*. Arch. Dermat. a. Syphil., *38*, (4), 646, (1938.)

Angeleguk E. O., Therapeutische Erfahrungen im Kinderhause für Trichophytiker. Zentr. f. Haut. u. Geschl., *60*, (8—9), 409, (1938).

Arakawa T., Beiträge zur Kenntnis von Benedekschen Mikroorganismen. Jap. J. Dermat., *44*, 45, (1938).

Arimiti T. und Akiyoshi M., Beitrag zur Kenntnis der experimentellen Aktinomykose. IV Mit. Trans. jap. pathol. Soc., *28*, 108, (1938).

Baldacci E., Ciferri R. et Vaccari E., Revisione sistematica del genere *Malbranchea* Sacc. Atti Istit. Bot. Università di Pavia, serie IV, *11*, 75—103, 15 figs., (1938).

Benedetti, G. Contributo clinico e sperimentale allo studio delle broncopneumomicosi (Micotorulosi broncopolmonare da *Mycocandida pseudotropicalis*), Nistri-Lischi Ed., Pisa (Italia), 1—106 pag., 41 figs., (1938).

Berberian D. A., Dermatophytosis of the feet. Sources and methods of prevention of reinfection. Arch. of Dermat. a. Syphil. *38*, 367—372, (1938).

Bertoni A., Influenza delle onde corte (12 m.) sui miceti., Boll. Soc. Med.-chir. di Pavia, *52*, 567—570, (1938).

Besta B. e Paná C., Larvata azione patogena nel coniglio di un ceppo di *Cephalosporium* isolato dal sangue umano. Ann. Istit. C. Forlanini, Roma, *2*, (11—12), 807—812, 4 figs., (1938).

Blumenthal und Evolceanu, Erytematosquamöse Trichophytide von besonderer Anordnung. Zentr. f. Haut- u. Geschl., *60*, (7), 291, (1938).

Blunck H., Feinde und Krankheiten der Maikäfer. Z. PflKrankh., *48*, (9—11), 488—507, 9 figs., (1938) (*Beauveria densa, Cordiceps militaris*).

Boczkowska M., Próby zwalczania plaszczyńca Burakowego *Piesma quadrata* Fieb. grzybem pwadozénym. (Attempts to control the Beet leaf bug *Piesma quadrata* Fieb. by means of an entomogenous fungus) Roczn. Ochr. Rośl. *5*, (5), 23 pp., 5 figs., (1938) (French summary).

Boers E. R. J., Kouwenaar W., and Wolff J. W., Mycetoma pedis (Madura foot). Geneesk. tijdschr. v. Nederl.-Indië, *78*, 1606—1613, (1938).

Caldwell G. T. and Roberts J. D., Rhinosporidiosis in the United States. J. Amer. Med. As., *110*, 20, (1938).

Carrión A. L. and Pimentel-Imbert M. F., Chromoblastomycosis in the Dominican Republic, Puerto Rico J. publ. Health, *13*, (4), 522—530, 5 pl., (1938) (*Hormodendron Pedrosoi, Phialophora, Acrotheca*).

Cartwright K. St. .G, A further note on fungus association in the Siricidae. Ann. appl. Biol., *25*, (2), 430—432, (1938). (*Stereum sanguinolentum, Daldinia concentrica*).

Castellani A., Smooth and rough forms of *Monilia tropicalis* Cast. in the sputum of the same patient. J. Trop. Med. (Hug.), *41*, (17), 277—279, 6 figs., (1938).

Catanei A., Sur les rapports entre les caractères des cultures des *Trichophyton violaceum* et *glabrum* et leur pouvoir pathogène pour les animaux. C. R. Soc. de Biol., Paris, *128*, (17), 255—256, (1938).

Catanei, A. Sur la place de *Trichophyton rubrum* dans la classification. Étude parasitologique et experimentale d'une nouvelle souche de ce champignon. Arch. Inst. Pasteur, Alger, *16*, (2), 227—231, (1938).

Ch'in T. L., Potassium tellurite and copper sulphate in Sabouraud's medium for isolation of pathogenic fungi. Pros. Soc. exp. Biol., N.Y., *38*, (5), 700—702, (1938) (*Trichophyton, Microsporon, Achorion, Epidermophyton*).

Ch'in T. L., Kurotchkin T. J. and Mu J. W., Fungistatic and fungicidal actions of arsenical compounds in vitro and in vivo. Chinese Med. J. (suppl.), 325—330, (1938).

Comandon J. et P. de Foubrune, Film sur les champignons predateurs de nématodes, Bull. Soc. Pathol. Exot., *31*, (10), 882—884, (1938) (suivi par l'observation de M. Muraz a propos du *Cordiceps* parasite de *Pallothyreus tarsatus*).

Cordua R., Genitalaktinomykose. Zbl. Gynäk., *62*, (46), 2530, (1938).

Couch J. N., The Genus *Septobasidium*. 1 Vol., 480 pags., 114 pls., 60 figs., The Univ. north Carolina Press, (1938).

Czarnota-Bojarska, Blastomycosis, Przeglad Dermat., *33*, (2), 390, (1938).

Danbolt N. and Mossige K., Silver foxes as source of infection with Trichophytia in man. Acta Dermato-vener., *19*, 368—373, (1938).

Demianczyk E., Primäre Mittelohraktinomykose. Arch. path.-anat. Inst., Jagellon Univ. Krakau, 1937—1938, (7—8), 6.

Dickson E. C., Coccidioidomycosis. The preliminary acute infection with fungus *Coccidioides*. The J. Am. Med. As., *111*, (15), 1362—1364, (1938).

Dickson E. C., Primary coccidioidomycosis. The initial acute infection with results in coccidioidal granuloma. The Amer. Rev. of Tuberc., *38*, (6), 722—729, (1938).

Dickson E. C. and Gifford M. A., Coccidioides infection (Coccidioidomycosis) II°: The primary type of infection. Arch. intern. med., *62*, 853—871, (1938).

Don Phyllis A., Moniliasis. S. Afr. med. J., *12*, (2), 49—51, (1938) (*Monilia albicans*).

Dosá A., Ein Fall von Actinomykosis pedis. Dermat. Wochschr., *107*, (30), 894, (1938).

Drechsler C., New Zoopagaceae capturing and consuming soil amoebae. Mycologia, *30*, 137—157, 4 pls., (1938).

Durham O. C., An unusual shower of fungi spores. J. Amer. Med. Ass., *111*, (1), 24—25, (1938) (*Alternaria, Hormodendron*).

Durham O. C., Incidence of air-borne fungus spores. II: *Hormodendrum, Alternaria* and Rust spores. J. of Allergy, *10*, (1), 40—49, 4 figs., (1938).

Eloy L., Mycose et phlegmon récidivant chez l'enfant après amigdalectomie (irradiation-guerison) Monde Med., *48*, 46—50, (1938) (*Oidium albicans*).

Epstein S., Presentation of the hypothesis that *Trichophyton interdigitale* is a degenerated *Trichophyton gypseum*. J. Invest. Dermat., *1*, 141, (1938).

Fawcitt R., Occupational diseases of the fungus in agricoltural workers. Brit. J. Radiol., N.S., *11*, (126) 378—392, 13 figs., (1938) (*Absidia corymbiphera*).

Fazakas A., Ueber die vom *Acrothecium hominis* Oläh verursachte conjunctivitis meibomiana. Klin. Mbl. Augenheilk., *101* (9), 387, (1938).

Feldman S., Moniliasis of the skin and the mucous membrane of the mouth. Arch. of Dermat. a. Syphil., *38*, 124, (1938).

Ferrando M. e Ceruti A., Su di un caso di micosi della regione cervicofacciale. Giorn. Batt. e Imm., *21*, (3), 393—400, 2 figs., (1938) (*Actinomyces bovis*).

Fraenkel E. M., Moulds and Asthma. Brit. med. J., (4044), 68—69, (1938).

Fraser P. K., The viability of some common pathogenic fungi. J. Trop. Med., *41*, 310—314, (1938).

Gavina Alvarado E. R., Negri T. e Mosto D., Esporotrichosis de pierna. Rev. Argent. de Dermat., *22*, (3), 354, figs. (1938).

Garzon, R., Einige persönliche Beobachtungen über Aktinomykosis. Aetiopathogenetische und therapeutische Betrachtungen. Rev. Argent. Dermat. Sifil., *22*, 99—123 (1938) (Spanish).

Glikina K. J., Actinomycosis und ihre Behandlung mit Roentgenstrahlen. Vestn. Röntgenol., *21*, 113—118, (1938) (Russisch).

Godal J., Un cas d'épidermophytie generalisée à *Trichophyton rubrum*. Bull. Soc. Path. Exot., *31*, (5), 337—339, (1938).

Gohar N., The first survey of ringworm in Egypt. J. Trop. Med. (Hyg.), *41*, (14), 229—234, 3 graphs., (1938) (*Achorion Schonleini, Trichophyton violaceum, T. tonsurans, Microsporon canis*).

Greco N. V., Bigatti A., Ponce de León S. y Capurro J., Caracteristicas del hongo patógeno productor de la enfermedad (Sarcomatosis) de Kaposi observadas en dos nuevos casos. La Semana Med., *45*, (31), 229—264, 36 figs. (1938) (*Cryptococcus haematicon*).

Greco N. V., Bigatti A., Ponce de Leon S., Gunche F. F. y Capurro J., Un segundo caso familiar de enfermedad (Sarcomatosis) de Kaposi con el hongo patógeno especìfico, el *Cryptococcus haematicon*. La Semana Med., (44), 16 pp., 17 figs., (1938).

Greco N. V., Bigatti A., Ponce de León S. y Capurro J., Etiología de la enfermedad de Schamberg observada en un caso. La Semana Med., (50), 20 pp., 17 figs., (1938) (*Cryptococcus haematophilus* n. sp.).

Greco N. V., Fernandez A. A. y Bigatti A., Epidermomicosis tricofitoide y en placas generalizadas, por un *Cladosporium*. Rev. Asoc. Med. Argent., *52*, (385—386), 8 figs., (1938) (*Cladosporium herbarum*).

Grigoraki L., Sur un nouveau milieu de conservation des dermatophytes. C. R. Soc. de Biol. Paris, 128, (22), 887—888, (1938).

Grigoraki L. et David R., Caractères biochimiques des champignons des teignes. C. R. Soc. de Biol., Paris, 128, (22), 889—891, (1938).

Guilliermond A. et Hurel-Py G., Recherches sur certaines particularités cytologiques d'un *Saprolegnia:* présence de sphérocristaux dans les vacuoles et formation aux dépens de la membrane cellulaire d'un composé pepto-callosique. Rev. de Cytol. et de Cytofisiol. Végét., *3*, (1), 23—35, (1938).

Hanan E. B. and Zurett S., A new species of *Madurella:* isolation and identification in a case of maduromycosis. Arch. Derm. Syph., Chicago, *37*, (6), 947—966, 9 figs., (1938). (*Madurella lackewanna* n. sp.).

Hassegawa S., Nakamoto T., Miyasaki Y. und Akiyosi M., Beitrag zur Kenntnis der experimentelle Aktinomykose. Jap. J. Med. Sci., V. Pathology, *3*, (2), 27—83, 25 figs., (1938).

Henrici A. T., An endotoxin from *Aspergillus fumigatus*. J. Bact., *36*, (3), 278, (1938).

Higuti K., Einflüsse der Farbstoffe auf die Hefe. Jap. J. of Dermat., *44*, 45, (1938).

Hnevkovsky O., Cas de „parotitis streptotrichomycotica" observé chez une fillette. Arch. Med. Enf., *41*, (9), 569, (1938).

Hoffmann E., Einfache Dauerfärbung von Hautpilzen und Mikroorganismen mit Azureosin glycerin. Klin. Woch., *17*, (46), 1622, (1938).

Hopkins J. G., Ringworm and moniliasis: their differential diagnosis. Penn. med. J., *41*, (6), 455—472, 24 figs., (1938) (*Microsporon felineum, M. auduini, Trichophyton*).

Itkin M. M., Ueber der Wirkung desinfiezierender Mittel auf Dermatophyte im pathologischen Material, Zent. Haut- u. Gesch., *60*, (10—11), 512, (1938).

Jacobson H. P., Coccidioidal granuloma. Arch. of Dermat. a. syphil., *38*, 484—485, (1938).

Janisch E., Eine neue Pilzkrankheit bei Nonnenraupen. Arch. phys. angew. Ent., 5, (1), 1—20, 5 figs., 4 graphs., (1938) (*Aspergillus versicolor*).

Jansen E., Örtliche Behandlung mit Thalliumazetat bei jungen Kinder mit Kopffavus. Dermat. Woch., *107*, (46), 1347, (1938).

Jausion, Hyronimus et Kouchner, Eczéma mycosique der ébanistes. Bull. Soc. Med. Hop. Paris, ser. III, *54*, 953—962, (1938) (*Epidermophyton floccosum*).

Joyce T. M., Thymol therapy. Actinomycosis. Ann. Surg., Philadelphia, *108*, 910, (1938).

Joyeux C. et Sautet J., Influence de la carence en vitamine A sur l'évolution de la teigne à *Microsporon felineum*. Bull. Soc. franc., Dermat. Syphil., *45*, (6), 1038—1040, (1938).

Kambayashi T., Ueber *Cephalosporium nigrum* n. sp., isoliert von einer Dermatomycosis in Aethiopien. Jap. J. of Dermat., *44*, 108, (1938).

Kambayashi T., Eine Studie über die systematische Stellung der *Trichophyton*-Arten. (Soll das *T. lacticolor* der Familie „Gymnoascaceae" eingerecht werden?). The Bot. Mag., Tokyo, *52*, (618), 291—330, 6 figs., (1938).

Karling J. S., *Harposporium anguillulae*. Mycologia, 30, (5), 512—519, 18 figs., (1938).

Kaye H., A case of rhinosporidiosis of the eye. Brit. J. Ophtal., *22*, (8), 449—455, 5 figs., (1938).

Kelly H. T., The significance of dermatophytosis in diabetes. Penn. med. J., *41*, (7), 581—589, 5 figs., (1938).

Kesteven H. L., Dermatitis eutorulosa with description of causative fungus. M. J. Australia, *1*, 963—967, (1938).

Kissmeyer A., Ueber die Behandlung von Epidermomykosen an den Händen und Füssen mit Jontophorese nach Jersil. Ugeskr. f. Laeger, 439, (1938).

Kliegel, Tiefe Trichophytie des beharten Kopfes bei einem Erwachsenen. Zent. f. Haut- u. Geschl., *60*, (8—9), 379, (1938).

Kogoi, Sporotrichosis disseminata. Zentr. f. Haut- u. Geschl., *60*, (5—6), 131, (1938).

Kurotchkin T. J., Fungistatic effect of hyposulphate on cultures of pathogenic fungi. Chinese Med. J., (suppl.) 331—335, (1938).

Lacaz C. da S., Chromomycoses. Brazil Med., *52*, (24), 555—560; (25), 578—583, 6 figs. (*Hormodendron pedrosoi, Phialophora verrucosa*).

Lack A. R., Spherule formation and endosporulation of the fungus *Coccidioides* in vitro. Proc. Soc. exper. Biol., N. Y., *38* (5), 907—909, (1938).

Lenartowicz, Sporotrichosis. Przeglad dermat., *33*, (1), 179, (1938).

Lentzte F. A., Die mikrobiologische Diagnostik der Aktinomykose. Munch. med. Woch., (47), 1826, (1938).

Lentzte F. A., Verbesserung der bakteriologischen Diagnostik der Aktinomykose. Deutsch. Zahn- usw. Heilk., *5*, 575—578, (1938).

Lepesme P., Recherches sur une Aspergillose des Acridiens. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr., N. 29, (5), 372—381, 2 pls., 2 figs., (1938) (*Aspergillus flavus*).

Levitan W., Methodik und Praktik der Bekämpfung der Pilzaffektionen im Kindesalter. Zent. f. Haut- u. Geschl., *60*, (8—9), 405, (1938).

Lewis G. M., Dermatophytosis. Onichomycosis. Arch. of Dermat. a. Syphil., *38*, 109, (1938).

Lewis G. M., Dermatophytosis (*Trichophyton purpureum*) Arch.of Dermat. a. Syphil., *38*, 109, (1938).

Lewis G. M., Dermatophytosis; Tinea glabrosa. Arch. of Dermat., a. Syphil., *38*, 109—110, (1938).

Lewis G. M., Dermatophytosis. Immediate wheal reaction to Trichophytin. Arch. Dermat. a. Syphil., *38*, (4), 658, (1938).

Lowenfisch F. P., Moniliasis. Arch. Dermat. a. Syphil., *38*, (3), 454, (1938).

Lowenthal L. J. A., Mycosis cutaneous in Negroes. J. Trop. Med., *41*, 187—189, (1938).

Mabalay E. B., Studies in the cultivation of *Pityrosporon* of Malassez. Mon. Bull. Philipp. Hlth. Serv., *18*, 15—19, (1938) [Abst. in Zbl. ges. Hyg., *43*, (1), 72—73 (1938].

Maestro T., Su una nuova forma di micosi della congiuntiva (Studio clinico e batteriologico su di un caso di micosi congiuntivale da un micete del tipo *Geotrichoides*). Ann. Ottal., Clin. Ocul., *66*, (6), 439—456, 4 figs., 2 tav., (1938).

Manca-Pastorino V., Raro micetoma del ginocchio. Giorn. Ital. Dermat. e Sifil., *79*, (5), 967—992, 5 tav., 13 figs., (1938) (*Actinomyces melanosporeus*).

Mayerhofer E. und Dracišić B., Weiterer Bericht über kindliche Maisbrandvergiftungen (Ustilaginismus). Z. Kinderheilk., *59*, (5), 543—552, (1938) (*Ustilago maydis, U. zeae, U. reiliana, U. fischeri*).

Meledy J. A., A simple treatment for epidermophytosis of feet. Mil. Surgeon, *83*, 250, (1938).

Mihashi A., An autopsy-case of widely spreaded actinomycosis (Jap.). Trans jap. path. Soc. *28*, 118, (1938).

Miller H. E., Coccidioidal granuloma. Arch. of Dermat. a. Syph., *38*, 499—500, (1938).

Milochevitch S. et Ekersdorf V., Lesions pilaires dans les teignes experimentales produites par les cultures pleomorphiques des dermatophytes. C. R. Soc. Biol., Paris, *127*, (13), 1369—1371, (1938) (*Sabouraudites felineus, S. lanosus, Ctenomyces mentagrophytes, C. radiolatus*).

Moore M., Pityriasis versicolor involving the inguinal region and the genito-crural folds. Arch. of Dermat. a. Syphil., *38*, 249—250, (1938) (*Malassezia furfur*).

Morrison D. B., Humphrey A. A., and Bailey J. E., Actinomycotic meningitis with a primary focus in the finger. J. Am. med. Ass., *110*, (19), (1938).

Mosto D., Die blastomykotischen granulome. Ann. Fac. med. (Montevideo), *33*, 585—596, (1938) (Spanish) (*Paracoccidioides brasiliensis*).

Negroni P., Morfologia y biologia de los hongo. Técnica micológica. Ed.„ El Ateneo", Buenos Aires, (1938), 1 vol., 312 pp., 76 figs.

Nekam L. Jr., Sporotrichose. Zent. f. Haut- u. Geschl., *60*, (10—11) 475, (1938).

Niizawa S., Ueber die Dermatomykoses in unserer Klinik, in Laioyang, Tienring und in einigen japanische Militärregimentern. J. Orient Med., *28*, (6), 1275—1308, 2 pls., 4 figs., 9 graphs., (1938) (German summary).

Nobécourt P., Jean Beauverie (1874—1938). Son oeuvre microbiologique. Bull. Ass. Diplômés Microbiol., Fac. Pharm. de Nancy, (17), 29—32, (1938).

Novy F. G., jr., Blastomycosis. Arch. of Dermat. a. Syphil., *38*, 500—501, (1938).

Onufrio O., Su di un caso di mughetto dell'esofago di un bambino con destroposizione dell'arco aortico. La Pediatria, *46*, (10), 868—879, 2 figs., (1938).

Pardo Castello V., Keratomycosis nigricans palmaris. Rev. Argent. de Dermat., 22, (3), 254, figs., (1938).

Peck S. M. and Rosenfeld H., The effects of hydrogenions concentration, fatty acids and Vitamin C on the growth of fungi. J. Invest. Dermat., *1*, 237—265, (1938).

Polano M. K., Een epidemie van Muizenfavus te's- Gravenhage. Ned. tijdschr. Geneesk., *82*, (II), (8), 2114—2115, 1 pl., (1938).

Pollidori A., Micosi renale sperimentale. Ann. Ital. Chir., *17*, 789—807, (1938) (*Monilia enterica, M. candida, M. tropicalis, Streptotrix carnea, Sporotrichum Beurmanni*).

Polyanskiy L. N., Otogenic abscess of temporal lobe of brain caused by *Penicillium*. Zhur. ush. nos. i. gorl. bolez., *15*, 138—142, (1938).

Popof I. S., Heft B. B., Antimonowa Z. S. und Litvinenko D. I., Fall von Chromoblastomykose. Vyest. venerol. derm., *12*, 1170—1173 (1937) [Russian, Abstr. in Zentr. Haut- u. Geschl., *59*, (7—8), 445 (1938)].

Potochnik M. B. Ueber die Epidermophytie. Zentr. f. Haut- u. Geschl., *60*, (7), 312, (1938).

Prehn D. T., Treatment (particularly sodium thiosulfate) for superficial mycotic infections of glabrous skin., J. Am. Med. Ass., *111*, 685—688, (1938).

Prokoptchouk A., Klinische und experimentelle Angaben über Chromomycosis. Vyestn. venerol. derm., (3), 21—27, (1938) [Abst. in Zbl. Haut- u. Geschl., *60*, (12—13), 628, (1938)] (*Hormodendron rossicum*).

Quodbach, Meningitis durch Hefen. Munch. Med. Woch., (27), 1054, (1938).

Ramel, Note anatomo-clinique sur les trichophytides noueuses. Bull. Soc. fr. Dermat. Syphil., (7), 1245, (1938).

Repetto R. L. y Blanco M. C., Broncho-mycose a fungus levuriforme (Moniliase) Rev. brasil. de Tuberc., *7*, (54), 793—816, 16 figs., (1938).

Rivelloni G., Isolamento di un raro micete (*Malbranchea Bolognesi-Chiurcoi*) da una micosi umana. Il Dermosifilografo, (16), 1046, (1938).

Rothman S., Melkerknoten. Zentr. f. Haut- u. Geschl., *60*, (10—11), 473, (1938).

Schmidt-Lange W. und Buchener H., Die chitinolyse pathogener Aktinomyceten. Arch. f. Hyg. u. Bakter., *120*, (4—5), 304—308, 3 figs., (1938).

Schürmann H., Zur klinischen Verwertbarkeit eines positiven Aktinomyzetenbefundes. Deutsch. med. Woch., (41), 1477, (1938).

Schütz W., Kasuistischer Beitrag zur Larynxaktinomykose. Z. Hals- usw. Heilk., *43*, (3), 296, (1938).

Sergent E., Rapport sur le fonctionnement de l'Institut Pasteur d'Algérie en 1937. Arch. Inst. Pasteur d'Algérie, *16*, (1), (1938).

Shanks S. C., The four-area method in X-ray epilation of the scalp. Brit. J. Dermat., *56*, 440—450, (1938).

Siewert, Trichophytia profunda. Dermat. Woch., *107*, (48), 1406, (1938).

Silva F. et de Aranjo E., Actinomycétome du pied a grains rouges (second cas brasilien) (Nouvelle espèce d'*Actinomyces*). Rev. fr. Dermat. Vénérol., *14*, (12), 451—460, 2 figs., (1938) (*Actinomyces* sp.).

Summeril F., Actinomycosis and blastomycosis of female genitalia. Amer. J. Obst., *36*, (1), 126, (1938).

Szathmáry S., *Epidermophyton purpureum*. Arch. f. Dermat. u. Syphil., *178*, (3), 269—275, 5 figs., (1938).

Szathmáry S., Das *Epidermophyton luteum* und seine varianten. Arch. f. Dermat. u. Syphil., *178*, (3), 216—224, 8 figs., (1938).

Szathmáry S., *Epidermophyton gypseum flavum.* Arch. f. Dermat. u. Syphil., *178*, (3), 225—233, 4 figs., (1938).

Takatsuki Y., Ueber eine von einer menschlichen Dermatose isolierte spezies von *Alternaria.* The Jap. J.Dermat. a. Urol., *43*, (5), 126—136, 13 figs., (1938).

Tobias J. W. et Niño F. L., Estudio de una nueva observacion de granuloma paracoccidioidico (forma linfatico-visceral). Prensa Med. Argent., *25*, (5), 232—243; (6), 286—301, 67 figs., 2 graphs., (1938).

Turu H., Inokulationsversuche von *Blastomyces* am Mundwinkel von Mensch und Thier. Fukuoka Ikwadaigaku Zasshi. (Jap.), *31*, (9), 158, (1938).

Venturi T., Contributo alla cosidetta blastomicosi cutanea da *Endomyces albicans* Vuill., con grave setticemia. Il Dermosifilografo, (7), 904, (1938).

Verebélij (de) T., Morphology of hyphomycosis of feet. Presse Med., *46*, 989—992, (1938).

Wade J. L. and Matthews A. R. R., Bilateral sporotrichosis of the breast., Arch. int. Med., *61*, (6), 916, (1938).

Walker O., Sulphanamid in the traiment of actinomycosis. Lancet, I, 1219—1220, (1938).

Wassmund M., Pseudoaktinomykose oder echter Aktinomykose. Munch. Med. Woch., (37), 1317, (1938).

Wassmund M., Aktinomykose der kieferknochen beim Kinde. Deutsch. Zahn- usw. Kieferheilk., *5*, (8), 596—613, (1938).

Wassmund, M. Beweist der Nachweis von Fadenbakterien oder Drusen das klinische Vorliegen einer Aktinomykose oder Streptothrikose? Dtsch. Zahn- usw. Kieferheilk., *5*, (8), 579—595, (1938).

Weinstein L. and Wickerham L. Y., Yeast-like fungi of human vagina. Yale J. Biol. a. Med., *10*, 553—560, (1938).

Whalen E. Y., Fungous infection of the external ear. J. Am. Med. Ass., *111*, (6), 502—504, (1938).

Williams J. W., Subsurface mycelium and dyes. Their significance in mycologic studies. Arch. of Dermat. a. Syphil., *38*, 235—240, (1938).

Woodruff V. M. and Hesseltine H. G., Relationship of oral trush to vaginal mycosis and the incidence of each. Amer. J. Obst., *36*, (3), 467, (1938).

Zaffiro A., Insolita forma di micosi cutanea da *Monosporium apiospermum* con settice mia mortale in un soldato; diagnosi e studio medico legale. Giorn. di Med. Milit., *86*, 636—640, (1938).

Zenin A. S., Zur Aetiologie und Epidemiologie der Dermatomykosen im Kuibyschewgebiet. Vyestn. Venerol. Dermat., (2), 5—9, (1938) [Abst. in Zbl. Haut- u. Geschl., *60*, (10—11), 513, (1938)) (*Trichophyton violaceum*)].

Revisione delle specie: *Actinomyces albus, A. chromogenus, A. odorifer, A. thermophylus, A. viridis, A. viridochromogenes, A. hominis, A. innominatus.*

del

Prof. Elio Baldacci.

(*dal Laboratorio Crittogamico Ital. di Pavia*)

Con le tavole XXI e XXII.

(24.III.1939.)

Introduzione

I criteri di studio da noi adottati in questo, come nel precedente contributo publicato in questa stessa rivista (Baldacci 1938), sono:

1) esame critico dei dati bibliografici antecedenti al nostro lavoro.

2) proposta di abolizione di quei nomi specifici riferiti a specie non coltivate od a specie imperfettamente e sommariamente descritte, sì che la loro reidentificazione si presenta difficile o impossibile.

3) studio sperimentale delle specie sul maggior numero possibile di colture con estensione ai ceppi originari, quando ciò é fattibile.

4) diagnosi e documentata sinonimia di ogni specie studiata. Anche in questo lavoro avremo modo di documentare come la confusione in seno alla sistematica degli attinomiceti sia tale da rendere assai ardua la nostra fatica, ma come i criteri esposti siano gli unici che ci possano far sperare in un resultato finale soddisfacente. Rimandiamo alla nostra 'Introduzione alla sistematica degli Attinomiceti' (Baldacci 1939) per quanto riguarda ogni discussione sulla ripartizione dei generi e delle entità di rango superiore al genere.

* * *

a) Actinomyces albus

Notizie storiche:

Il termine specifico „*albus*" é usato per al prima volta da Rossi-Doria per designare un attinomicete di cui stabilisce oltre le caratteristiche colturali, anche la sinonimia con le specie anonime di Almquist, e con la *Streptothrix* isolata dall'aria da Gasperini (1890). Quest'ultimo aveva a sua volta identificato il proprio ceppo come *Streptothrix Foersteri*, descritta da F. Cohn, ma il Rossi-Doria rifiuta tale identità criticandola: „Nulla nella descrizione fatta da Cohn può giustificare questa idea. In quella descrizione non si hanno infatti che caratteri generici e di caratteri specifici non v'é neppure l'ombra". Sta di fatto che il Cohn non riuscì a coltivare la *Streptothrix Foersteri*, e ne dette solo i caratteri osservati „in situ", caratteri che vennero poi riportati dai vari trattatisti. Così De Toni e Trevisan ricordano la specie con la diagnosi latina sotto *Nocardia Foersteri*. E' noto altresì come più tardi Pinoy indicasse questo attinomicete come il tipo di un nuovo genere: *Cohnistreptothrix*. Riteniamo pertanto che esso non deve essere preso in considerazione circa le affinità o identità con l'*A. albus*, come aveva osservato Rossi-Doria. L'esame di questa specie ci porterebbe difatti a studiare i rapporti che il genere *Cohnistreptothrix* ha con *Actinomyces* e con *Actinobacterium*, su cui abbiamo già parlato in questa stessa rivista.

L'attinomicete descritto da Gasperini deve quindi considerarsi senza nome fino a che Rossi-Doria propone per questo il termine specifico ‚*albus*', includendovi anche le tre specie di Almquist, descritte quasi contemporaneamente. La descrizione di Gasperini é molto accurata e di essa riassumiamo i principali caratteri nella Tavola I. Le tre specie di Almquist diversificano ben poco fra loro, secondo quanto é esposto dall'A. Ma poiché per la specie N. I, Almquist parla di una crosta bianca che col tempo diviene grigia, é opportuno escludere tale specie dalla sinonimia con l'*A. albus*. Il Gasperini (1894) torna a descrivere l'*A. albus* per distinguerlo dall'*Actinomyces chromogenus*, che si distinguerebbe per le caratteristiche tintoriali della colonia non sporificata ed il cui pigmento é diffusibile al sustrato. Di questa specie diremo a pag. 155.

Successivamente Krainsky nelle sue ricerche sugli attinomiceti del terreno, dà una nuova descrizione della specie. In riassunto le colonie di questo ceppo si presentano ben sviluppate, con una vegetazione aerea bianca che diviene grigia in agar-glucosio ed in brodo di gelatina; il micelio aereo apparisce presto ed il micelio vegetativo é incoloro. Su peptone e brodo agarizzato il micelio aereo non si forma che in strato sottile. Presenta spore ovali di 1 μ; fluidifica la gelatina; non é cromogeno; riduce i nitrati; non ha azione diastasica in amido. Il Waksman illustra nel suo lavoro l'*A. albus*, isolato da vari terreni, e per il quale osserva che se somiglia sotto certi aspetti a quello descritto da Krainsky e altri AA., é dubbio che sia lo stesso organismo. Anche per la descrizione data dal Waksman si osserva che il micelio aereo si presenta talora bianco e grigio secondo i sustrati, mentre il micelio vegetativo varia da bianco a bianco-grigiastro. Le spore sono di 1,2—1,6 μ per 1,1—1,4 μ riunite in corte spirali per altro rare; l'attinomicete non é cromogeno; ha azione diastasica; riduce i nitrati; liquefà la gelatina. Anche il Jensen appare incerto sulla vera diagnosi di questa specie, poiché segna un punto interrogativo accanto alla nomenclatura. In coltura il micelio aereo è indicato bianco e quello vegetativo crema o giallo-ocra. Dal punto di vista morfologico invece l'attinomicete produce spore rettangolari di 0,4—0,5 μ per 2—4 μ. Alla originaria descrizione si tengono invece Pollacci e Nannizzi e Puntoni. Drechsler identificherebbe con la *Str. alba* Rossi-Doria, l'*Act. griseus* (Krainsky) emend. Waksman e Curtiss, e ciò sulla base delle descrizioni.

Agli attinomiceti dell'gruppo *albus*' dedica il Duché un grosso volume comparso nel 1934. Dobbiamo premettere che rifiutiamo la designazione di ‚gruppo' sistematicamente priva di significato, come hanno fatto pure osservare Millard e Burr a proposito dei ceppi patogeni per la patata (il cosidetto 'gruppo *scabies*'). Difatti le specie che si riuniscono nel 'gruppo', o sono ben delimitate fra loro, ed allora si possono riunire in sottogeneri; o non lo sono ed allora si deve parlare di varietà, sottospecie ecc. Se poi si vuole intendere con 'gruppo *albus*', tutte le specie a efflorescenza bianca, esse sono più numerose di quelle descritte da Duché, mentre non vi potrebbero trovare posto le specie *A. viridis* e quelle aventi affinità con l'*A. flavus*. Analoghe osservazioni si debbono fare dei 'gruppi più importanti' secondo l'opinione di Duché; così il'gruppo *chromogenus*' non esiste perché la specie é sinonima di *A. albus*, come dimostriamo in questo lavoro e il potere cromogeno é comune a molte specie. Il 'gruppo *bovis*' non esiste perché la specie é „nomen dubium"; il 'gruppo *asteroides*' é invece una specie ben definita e non fa parte del g. *Actinomyces*. Infine si deve osservare che l'*A. albus* é una specie ben caratterizzata che non può essere confusa con altre.

Il Duché basa la sua classificazione sull'aspetto e sulla forma dei talli in coltura nel terreno di Czapek, modificato ed usato come terreno standard. Egli trascura invece completamente ogni studio morfologico e sporologico ai fini sistematici. E' vero che nella parte generale egli distingue 5(!) forme di sporificazione, ma non una di queste é poi accettata come criterio sistematico. Ciò che l'A. chiama artrospore e artrospore irregolari, altro non sono che le vecchie spore di fragmentazione dei più antichi AA., la cui funzione sporologica é nulla, mentre é dimostrato oramai trattarsi di degenerazione dell'ifa, che simula una fruttificazione artrosporica. Di incerto significato sono le masse (clave dei più antichi AA.?) e le spore laterali. Non é stato compreso dall'A. il nesso fra filamenti aerei, spirali e spore (oidiospore degli antichi AA.). mentre gli studi di Drechsler, Orskov ecc. ne hanno esaurientemente dimostrato la funzione. Tuttavia qualche dubbio deve essere nato in mente all'A., che pensa di definire i talli l'insieme dei filamenti provenienti dallo sviluppo dell'entospora (spora del micelio aereo). Ma aggiunge che i talli possono avere origine anche dall'artrospora, ciò che in difinitiva annulla la prima defi-

nizione e non significa altro che qualunque fragmento può dare origine a colonie attinomicetiche. Tuttavia l'A. parla di talli 'monospermi' mentre il metodo adottato é quello delle diluizioni successive e non già quello degli isolamenti monosporici. Il Duché, avendo rilevato l'impurezza di alcuni ceppi, generalizza questo stato di fatto, fino a ritenere impure (più attinomiceti in una coltura) tutte o quasi tutte le specie oggetto di studio dei precendenti ricercatori.

Per quanto riguarda più strettamente l'*A. albus*, si deve ancora rilevare che dopo avere costatato che la descrizione di Waksman „ne correspond pas tout à fait au type *albus* de Gasperini, Rossi-Doria, Krainsky" (pag. 224), comparando il proprio ceppo con quello dei precedenti, conclude: „L'éspece de Waksman et Curtiss semble posseder toutes les propriétés de celle de Krainsky ... Notre espéce ressemble aux deux precedentes." (pag. 265). Ciò che per una specie, che vorrebbe essere monosporica, é un bel fatto, quando lo stesso Waksman, come si é detto, trovava dubbia l'identità del suo ceppo con quello di Krainsky. In definitiva non ci sembra che il lavoro di Duché abbia raggiunto lo scopo di illustrarci la specie *A. albus* come forse era nelle intenzioni dell'A., dopo una documentazione bibliografica che mirava a mostrare le diversità d'opinione degli AA. precedenti. Altri rilievi saranno fatti in seguito, particolarmente a proposito di alcune nuove specie fatte dal Duché.

Parte sperimentale:

Origine e provenienza dei ceppi:

Diamo a seguito l'elenco dei ceppi da noi presi in studio, indicandone l'origine e contrassegnandoli con una sigla per la loro facile designazione nel testo.

Mc 1. etichettato *A. albus* e presente nella collezione della Micoteca del R. Laboratorio Crittogamico.

Mc 2. etichettato *A. bovis*, come il precedente.

Ba 1. etichettato *A. bovis* e ricevuto dal C.B.S., Baarn (Olanda). [E' lo stesso ceppo studiato da Puntoni (1931) con l'indicazione N° 18].

O 1. etichettato *A. albus* e ricevuto dal Dott. Olah, della Clinica Dermosifilopatica di Debracen. (Ungheria).

O 3. etichettato *A. sp.*; come il precedente.

O 5. etichettato *A. Lieskei*; come il precedente. (Ignoro se tale nome indica un ceppo della collezione di Lieske o é dato come specie nuova od identica a quella di Duché).

O 6. etichettato *A. sp.*; come il precedente.

AP 1. etichettato *A. bovis* e presente nella collezione della Micoteca del R. Lab. Crittogamico. Fu inviato in esame dal Prof. G. Parrino, dell'Istituto d'Igene della R. Università di Palermo.

M 1. etichettato *A. bovis* e ricevuto dalla clinica dermosifilopatica della R. Università di Milano.

C 13 R 5. etichettato *Actinodiscomyces bovis*, ceppo Ronchi. Ricevuto dal Prof. Redaelli, dell'Istituto di Anatomia Pat. della R. Università di Pavia, e studiato dal Dr. Cortese.

C 14. etichettato *A. albus* e ricevuto dal Dr. Cortese, che lo ebbe a sua volta dal Prof. Puntoni, dell'Istituto d'Igene della R. Università di Roma.

R 1. etichettato *A. sp.*; ceppo Moncasa e ricevuto dal Prof. Redaelli.

R 3 C 6. etichettato *Streptothrix albo-flava* della raccolta Prof. Sanfelice e ricevuto dal Dr. Cortese.

IP 30. isolato da noi in un inquinamento di *A. Bostroemi.*

B 1062. etichettato *A. bovis* e ricevuto dall'Istituto O. Cruz di Rio de Janeiro (Brasile) ed isolato da attinomicosi bovina.

AF 2. etichettato *A. asteroides* e presente nella collezione della Micoteca del R. Lab. Crittogamico.

AF 3. come il precedente.

AF 4. come il precedente.

AU. ettichettato *A. aureus*; come il precedente.

SA. etichettato *A. Sanninii* Cif. e ricevuto dal C.B.S. Baarn. La specie fu descritta da Ciferri (1922).

FA. etichettato *A. farcinicus* e ricevuto dal C.B.S. Baarn, che lo ebbe a sua volta dall'Istituto Pasteur di Parigi.

LB. senza etichetta e ricevuto dal Prof. Luchetti, dell'Istituto di Patologia Vegetale della R. Università di Pisa. E' stato isolato da bile umana.

N 7 (R). isolato da noi nell'intestino di Termiti. (Baldacci, 1938).

S. isolato da legno attaccato da Termiti.

O 2. etichettato *A. odorifer* e ricevuto dal Dott. Olah, di Debracen.

Sil. etichettato *Nocardia silvodorifera* e ricevuto dal Prof. Redaelli, che a sua volta lo ebbe dall'Istituto di Sanità di Firenze.

Caratteri morfologici:

M e t o d o. Abbiamo fatto uso (Metodo di Unna) di grosse provette in cui erano posti due vetrini portaoggetti; le provette erano poi riempite fino a tenere immersi per due terzi i detti vetrini, con una soluzione nutritiva (acqua peptoglucosata; Czapek). Seminate con l'attinomicete,le colture erano mantenute in termostato a 25°C. per 2—3 mesi, lasciando che la soluzione evaporasse lentamente, e che le coloniette dell'attinomicete che vi cresceva immerso od in superficie, aderissero al vetro. I vetrini portaoggetti si tolgono e si lasciano asciugare a 25°C. per 24 ore; successivamente si fissano in alcool o con altri fissativi che interessano. Il materiale é colorabile. Altro metodo usato é quello di Drechsler e che consiste nell'impressione su fissativi di albumina, effettuata con fragmenti di coltura sporificata. Noi abbiamo fatto uso di gelatina glicerinata, solida, posta a sciogliere su di un vetrino coprioggetti. Tutti i metodi sperimentati danno buoni resultati; a nostro avviso é migliore per lo studio delle spirali e delle catenelle sporigene quello detto di Unna e descritto sopra.

O s s e r v a z i o n i. Si hanno due tipi di micelio. Il primo ialino, non settato, di meno di 1 μ di diametro, ramificato, con andamento ondulato. Le ramificazioni partono perpendicolarmente dal punto di inserzione (fig. 1 e 2; tav. XXI). Questo micelio si origina direttamente dalla germinazione delle spore e può essere più o meno abbondante; in coltura corrisponde al micelio detto vegetativo o del sustrato. Il secondo micelio é di diametro maggiore del primo, di 1,1—1,4 μ; subialino (fig. 3; tav. XXI). Questo micelio porta rami fertili abbondanti, ramificati, che alla loro estremità si incurvano ad uncino e successivamente si fanno spiralati (fig. 4, 5, 6; tav. XXI, e fig. 1; tav. XXII). Questo micelio corrisponde in coltura alla comparsa di una vegetazione bianca, che sovrasta la precedente e che, col tempo, diviene biancosporco o bianco-latteo, di aspetto cretoso o polverulento. Essa é chiamata micelio aereo. Sono i rami laterali di questo micelio che danno luogo alla formazione delle spore, le quali si ottengono per segmentazione e successiva divisione del setto, simulante una contrazione. Le spore sono di forma ovoidale sebbene non manchi una certa varietà, presentandosi talora a bastoncino fino ad ovoidee. Le dimensioni vanno da 0,6—0,7 × × 1—2 μ. Le divergenze fra i vari AA. sia sulla misura sia sulla forma, non sono da attribuire alla piccolezza delle spore, come scrive il Duché, ma al momento in cui vengono effettuate le misure e le osservazioni. Quando le spore sono riunite in catenelle nelle ife esse appaiono rettangolari e assai lunghe (fig. 2 e 3; tav. XXII); allorché sono sparse nel preparato più brevi ed ovoidee (fig. 6 e 7; tav. XXII). Nel primo caso le letture sono falsate dalla incompleta formazione dei setti e dalla incompleta separazione delle spore stesse. Nel secondo caso la loro distribuzione sul vetrino non é uniforme, per cui molte restano aderenti alla superficie del vetro con l'estremità, e per così dire „in piedi", ed appariscono in tal caso rotonde. Non si deve quindi ammettere, con alcuni AA., un dimorfismo delle spore. La settazione non é sempre evidente, mentre sono abbondanti le spirali, a passo stretto e destrorse. Nel vecchio micelio vegetativo é osservabile il fenomeno della degenerazione delle ife, in cui si alternano zone di protoplasma con spazi vuoti e simulanti una produzione artrosporica (fig. 5; tav. XXII). E' l'errore nel quale sono caduti i primi ricercatori, e lo stesso Gasperini. La quistione si ritrova in Lachner-Sandoval e in Vuillemin, che ebbe forse presente questa falsa sporificazione quando formò la famiglia delle Microsyphoneae, ed in Grigorakis. Peraltro, poiché questi AA. non hanno specificato sempre la specie illustratata, ci fanno pensare che essi abbiano talora avuto a che fare con forme di *Proactinomyces*, nei quali non avviene, come é noto, una sporificazione in un micelio indifferenziato, ma il micelio vegetativo, allorché la sua crescita si arresta, si suddivide e si fragmenta in elementi bacillari. Il processo di questa fragmentazione é stato studiato da Orskov e da Jensen e non ha a che vedere con la degenerazione di cui sopra. Le artrospore irregolari di Duché e AA. ricordano invece molto da vicino questa degenerazione per cui noi riteniamo che gli AA. l'abbiano erroneamente interpretata come sporificazione.

TAB. 1. — COMPARAZIONE DEI CARATTERI DI A. *Albus* E DI SPECIE SIMILI

Nome delle specie	Autore	Spore (dimensioni) μ	Colture		Cromogenesi	Azione proteolitica in		azione diastasica	Inversione saccarosio	Osservazioni sul pH.	Varie
			m. vegetativo	m. aereo		gelatin.	latte				
Cladothrix dichotoma	Macè	+		bianco	+						
Streptothrix Foersteri	Gasperini	ovali (1,0—1,5)	incoloro giallognolo	bianco (1)	—	+			debole	sviluppo in alcalinità	(1) Nel lavoro del 1894 è detto di color bianco fino a grigio.
Streptothrix Nr. 2	Almquist	+		bianco	—	+					
Streptothrix Nr. 3	„	+		bianco	—	—					
Streptothrix alba	Rossi-Doria	+	incoloro	bianco	—		—				
Actinomyces albus	Krainsky	ovali (1 μ)	incoloro	bianco (meno spesso grigio)	—	+		—	—	alcalinizza	
A. albus	Waksman e Curtiss	sferiche, ovali 1,2—1,6 × 1,1—1,4	bianco o grigio	crema o grigio	—	+	+	+	—	alcalinizza	
A. albus	Jensen	rettangolari 0,4—0,5 × 2—4	crema o giallo ocra	bianco	+						
A. albus	Duchè	+	bianco giallo	bianco	—		—			alcalinizza	
Actinomyces chromogenus	Gasperini	ovali (1,5)	ocra fino a nero	bianco	+						
Cladothrix odorifera	Rullmann	+ (1,0)		bianco cretoso	debole	+					
Actinomyces thermophylus	Berestneff	+		bianco							Sviluppo fra 30° e 60° C.
A. thermophylus	Gilbert	(0,5 bis) 0,6	grigio giallo	grigio		+	+				Odore di frutta: spore acido-resistenti
A. thermodiasta-ticus	Bergey	ovali	incoloro	bianco		+	—	+			Temperatura massima 65° C.
A. Sanninii	Ciferri	rotonde	incoloro	bianco o bianco avorio	—	debole					
A. Almquisti	Duchè	+	giallastro	—	—						
A. Gougeroti	Duchè	+	verdastro	bianco	—						
A. Graminearum	Berestneff	+		bianco		+	—				
Streptothrix gedanensis I	Scheele e Petruscky	+	incoloro	bianco		debole					temperatura optimum 37° C.
Streptothrix candida	Petruscky	+	incoloro	bianco		+	+				
Streptothrix Lathridii	Petruscky	+	incoloro	bianco		+	+				
Cladothrix invulnerabilis	Acosta e G. Rossi	+		bianco	—	+					Pigmenta la patata in colture.

Non abbiamo da rilevare differenze per quanto riguarda i singoli ceppi osservati. Anche in quelli dove l'aspetto colturale é, come vedremo, modificato (scarso micelio aereo o micelio aereo aderente non polverulento), non ci é stato dato di osservare un differente comportamento morfologico.

Caratteri colturali:

Colture in Terreno Pollacci (pH = 6,7; T: 25°C). Vi furono coltivati tutti i ceppi. Si ha inizialmente una colonia in forma di pellicola assai aderente al sustrato, membranosa, increspata, incolora, che sviluppa in preferenza sul fondo della provetta. Il micelio aereo compare molto tardi, preferibilmente nella parte più asciutta, ed é di color bianco simile a gesso o calce spruzzatavi sopra. Invecchiando diventa bianco avorio.

Colture in agar nutritivo glicerinato (pH = 6,8; T. 25°C.) [1]. Vi furono coltivati tutti i ceppi. Lo sviluppo iniziale é costituito da una colonia simile ad una pellicola umida o membranosa, plicata, aderente al sustrato e trasparente e che assume per riflesso una tinta analoga a quella del sustrato. Solo per i ceppi *FA* e *CI3 R5* (tab. 2) si può osservare una tinta volgente al grigio. Con l'età, la pellicola si fa più opaca fino ad assumere una tinta giallognola parallelamente alla pigmentazione del sustrato, come si può osser-

Tab. 2. — Caratteri delle colonie di *A. Albus*

CEPPI	Colore micelio vegetativo	Micelio aereo		LEGGENDA:
		formazione	colore	
Mc 1	incoloro	++	bianco	— micelio aereo raro
Mc 2	„	+++	„	± micelio aereo che si forma irregolarmente in coltura
Ba 1	„	±	„	
O 1	„	+	„	+ micelio aereo costante scarso
O 3	„	+	„	++ micelio aereo costante discreto
O 5	„	±	„	+++ micelio aereo costante abbondante
O 6	„	±	„	
AP 1	„	±	„	
M 1	„	±	„	
C 13 R 5	grigio-bianco	+++	bianco cremeo	
C 14	incoloro	+	bianco	
R 1	„	—	„	
R 3 C 6	„	—	„	
IP 30	„	+++	„	
B 1062	„	±	„	
AF 2	„	+++	candido	
AF 3	„	+++	bianco cremeo	
AF 4	„	+++	bianco grigio	
AU	„	+	bianco	
SA	„	±	„	
FA	grigio-bianco	+	„	
LB	incoloro	+	„	
7 (R)	„	+++	bianco grigio	
S	„	+	bianco	
O 2	„	+	„	
Sil.	„	++	„	

[1]) Formula: peptone gr. 10; estratto di carne gr. 5; NaCl gr. 5; agar: gr. 20; glicerina 1 %; acqua 1000.

vare nelle colture dove non si é formato micelio aereo. L'apparizione di questo micelio é difatti più o meno sollecita e si possono avere colture dello stesso ceppo sporificate oppure no anche dopo 3—4 mesi (tab. 2). La formazione del micelio aereo appare in rapporto al contenuto di acqua di condensazione, all'aereggiamento delle colture e a vari fattori indipendenti dal ceppo e dalla specie. Il micelio aereo é polverulento o cretaceo o gessoso, più o meno abbondante e può rivestire l'intera colonia (fig. 4; tav. XXII). Nelle piccole coloniette isolate é facile osservarre una disposizione a cerchi concentrici, come era stato descritto da Rossi-Doria. Il colore delle colonie sporoficate é *costantemente bianco*, sebbene vari di tonalità secondo lo sviluppo: é difatti generalmente bianco calce all'inizio, poi bianco avorio o bianco latteo o bianco-grigio nelle colture più vecchie. Le colture imbruniscono l'agar diffusamente con una intensità in rapporto a vari ceppi (tab. 3); tuttavia si costata una attenuazione del potere cromogeno con i ripetuti passaggi colturali (cfr. Gasperini). Le colture tramandano il caratteristico odore (di muffa o terra detto anche di attinomiceti). Le colture, di 1 mese circa, hanno il rovescio della colonia giallognolo, più o meno oscuro a secondo del potere cromogeno. La pellicola non diventa mai nera come si ha in altre specie.

Colture in terreno carota (pH = 7; T. 25°C.). Vi furono coltivati tutti i ceppi ad eccezione di *R 1*, *R 3 C 6*, *IP 30*, *AU*. Sviluppo iniziale con colonie sparse minute, incolori od in forma di colonia unica rilevata. Le colonie sparse confluiscono dopo un mese di coltura circa in una patina membranosa, bianco-cremea e che si ricopre parzialmente di micelio aereo bianco, diffuso. In particolare il ceppo *O 6* presenta delle variazioni di colore da bianco a bianco giallognolo ed il ceppo *AP 1* dei solchi ed anelli concentrici assai spiccati. Il ceppo *M 1*, ha delle tonalità bianco-verdi alla periferia delle colonie.

Colture in agar sintetico di Czapek modificato (pH = 7,2; T. 25°C) [1]). Vi furono coltivati tutti i ceppi ad eccezione di *Mc 1*, *Mc 2*, *O 5*, *IP 30*, *AU*, *FA*, *LB*. Lo sviluppo iniziale é costituito da una vegetazione polverulenta, bianca, asciutta, con aspetti svariati, in linee o solchi concentrici. Il micelio vegetativo si forma in strato molto sottile sull'agar. La colonia non assume mai aspetto rigoglioso e dopo 40 giorni di coltura le caratteristiche sono le stesse. Il micelio aereo bianco appare in ritardo nei ceppi *Ba 1*, *AU*, *R 1*, *R 3 C 6*, *B 1062*. Non si osserva nessuna pigmentazione dell'agar, ad eccezione del ceppo *C* 14, che nostra un debole potere cromogeno.

Colture su patata in pezzi (T. 25°C.). Non sono coltivati i ceppi *AU* e *LB*. Lo sviluppo é assai rapido con coloniette parzialmente confluenti o in forma di micelio esteso, membranoso, che si ricopre presto di micelio aereo bianco. Il colore del micelio aereo presenta le già riferite variazioni in rapporto ai ceppi e all'età.

Colture su carota in pezzi (T. 25°C.). I ceppi *Ba 1*, *R 1*, *Mc 1*, *B 1062*, non svilupparono in questo terreno. Per i rimanenti si osserva la formazione di una colonia continua, membranosa, sottile, con una sporificazione di color bianco, che con l'età diventa color avorio.

Colture in acqua peptoglucosata (pH = 7,5; T. 25°C.). Vi furono coltivati tutti i ceppi. Si forma una pellicola sul velo dell'acqua, ed un anello alle pareti del vetro. La colorazione del micelio aereo é bianca e quella del micelio vegetativo, che é immerso, giallognola o giallo-verde. In *C 14* non si é formato anello; in *Ba 1* l'anello non é completo, ed in *IP 30* l'anello é apparso molto in ritardo. Sul fondo si forma, non costantemente,. un deposito nuvoloso, incoloro. Il liquido può pigmentarsi (Tab. 3).

Caratteri biochimici:

Temperatura: Uno sviluppo costante si ottiene a 24°—25° C. mentre a 18°C. l'accrescimento delle colonie é oltremodo lento. A 37°C. lo sviluppo non é costante per tutti i ceppi. Infine taluni ceppi (*C 13 R 5* e *Mc 1*) sono capaci di un rapido e abbondante sviluppo a 47°C. Tale caratteristica non é però esclusiva di una sola specie, poiché oltre l'*A. albus*, hanno mostrato di sviluppare a questa temperatura anche l'*A. griseus* e l'*A. violaceus*.

Azione proteolitica (Tab. 3): Tutti i ceppi fluidificano la gelatina ad eccezione dei ceppi *IP 30*, e *C 13 R 5*, nei primi 30 giorni di coltura. Anche l'intensità della reazione,

---

[1]) Formula: KH_2PO_4 gr. 1; $MgSO_4$ gr. 0,5; KCl gr. 0,5; $FeSO_4$ gr. 0,01; $NaNO_3$ gr. 0,2; saccarosio gr. 30; agar gr. 15; acqua: 1000.

TAB. 3. — CARATTERI BIOCHIMICI DELL'*Actinomyces Albus*:

Ceppi	Pigmentazione			Colture in gelatina				Colture in amido			Invertasi (2)		Anaerobiosi	
	sustrato agarizzato (1)	acqua peptoglucosata	pH (3) finale	pigmentazione	Fluidificazione (7) a 30 g.	Fluidificazione (7) a 70 g.	pH (8) finale	pigmentazione col. (9)	pigmentazione sustrato	reazione (10)	saccarosio	glucosio	esito	sustrato
Mc 1	+	+(4)	8,1	—	0,8	5,2	8,4	—	—	+	+	—	tracce	Czapek
Mc 2	—	+(4)	8,2	—	1,0	5,0	7,1	—	—	—	+	—	tracce	nutrit. glic.
Ba 1	—	—(6)	7,9	—	1,0	5,0	8,5	incoloro	—	+	+	—		
O 1	+	+	8,2	—	1,0	4,5	8,2	incoloro	—	—	+	+		
O 3	+	+	8,1	—	2,0	5,9	8,1	giallastro	+	+	+	—		
O 5	—		8,1	—	1,5	5,6	8,1	„	—	+	+	—		
O 6	+	+(6)	8,1	—	2,0	6,0	8,4	incoloro	—	+	+	—		
AP 1	+	+	7,6	debole	2,0	5,5	8,2	giallastro	—	—	+	—		
M 1	+	+	8,1	debole	2,0	6,0	8,2	„	—	+	+	—		
C 13 R 5	+	+	8,2	—	0	5,0	7,2	—	—	—	+	+	+	nutrit. glic.
C 14	—	+	8,4	—	1,5	5,2	8,5	giallastro	+	+++	+	—	tracce	Czapek
R 1	+										+	—		
R 3 C 6	+												—	nutrit. glic.
IP 30	+(4)	—	8,2	—	0	0	—	—	—	—	+	—		
B 1062	+	—												
AF 2	+	+(6)	8,2	giallooro	2,0	6,0	8,1	giallastro	—	—	+	—		
AF 3	+(5)	+(6)	7,6	debole	2,0	5,8	8,2	„	+	+	+	—		
AF 4	+(4)	+(6)	8,2	debole	1,5	5,5	8,1	„	—	+	+	—		
AU	—	+	8,4	debole	0,9	4,7	8,4	incoloro	+	++				
SA	—	+(6)	8,0	—	2,0	5,5	8,2	giallastro	+	—	+	—		
FA	+	—						incoloro	—	+++				
LB	—	+	8,2	—	1,5	5,5	8,0	giallastro	—	+				
O 2	—	+	8,6	—	2,0	6,0	8,1	„	—	—				
Sil.	—	+	8,1	—	1,5	5,5	7,2	„	—	—				

(1) Terreno nutritivo glicerinato; (2) Analisi in soluzioni di Czapek al nitrato e saccarosio (vedi nota a pag. 151); (3) pH, controllo e partenza = 7,0; (4) assai intensa; (5) con tonalità violacea; (6) con tonalità rosso-tiziano; (7) L'attività proteolitica è espressa in cm. d'altezza di gelatina fluida. Il N. 6 corrisponde alla fluidificazione totale; (8) controllo: pH = 6,4; (9) S'intende il micelio vegetativo; il micelio aereo è sempre bianco; (10) Leggenda: — negativa, + amidodestrine, ++ eritrodestrine, +++ acrodestrine.

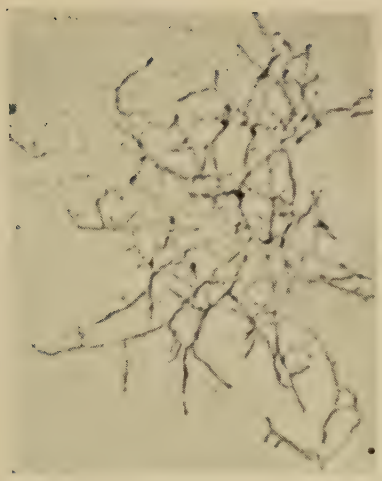


Fig. 1

Fig. 2

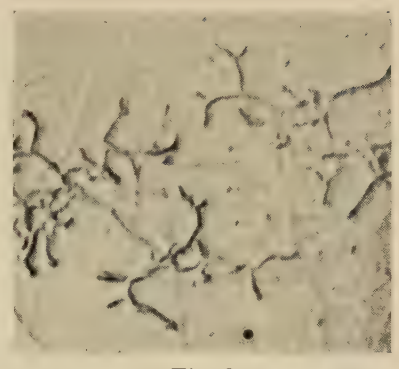


Fig. 3

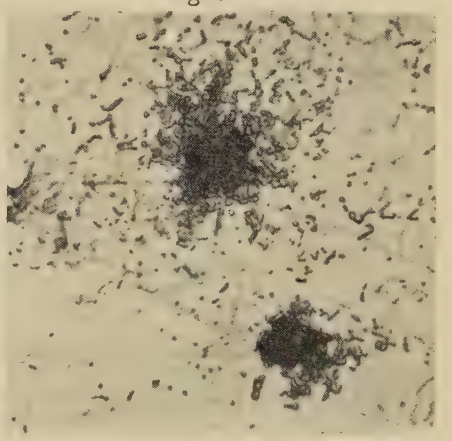


Fig. 4.

Fig. 5.

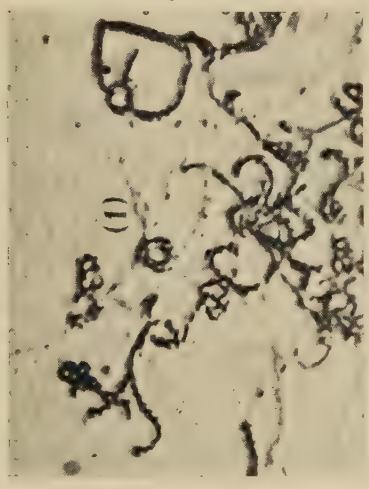


Fig. 6.

Fig. 1. Colonia iniziale di *A. albus*. Micelio vegetativo; × 820.
Fig. 2, Come fig. 1; × 1120. Si osservi la ramificazione che ha origine ad angolo retto (1), e l'andamento sinuoso successivo (2).
Fig. 3, *A. albus*: prima formazione del micelio aereo che è più visibile al di sopra del micelio vegetativo incoloro (preparato non colorato); × 1120.

Fig. 4, Colonia sporificata di *A. albus*; × 820.
Fig. 5, Particolare della periferia della colonia di cui alla fig. 4; si osservino in alto gli anelli della spirale; × 820.
Fig. 6, Come la fig. 5; × 1120. Si osservi la spirale vista in proiezione verticale.

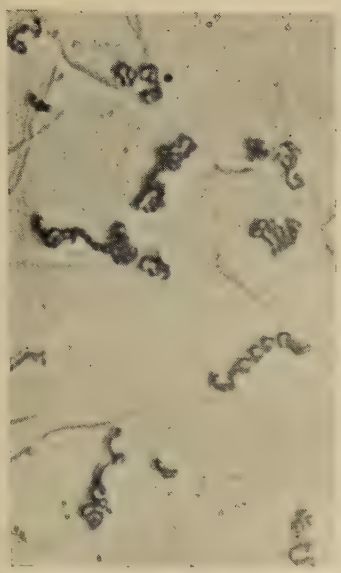


Fig. 1

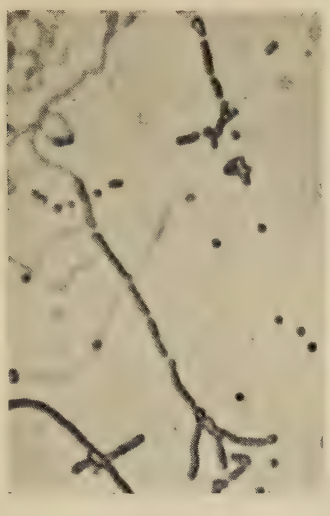


Fig. 2.

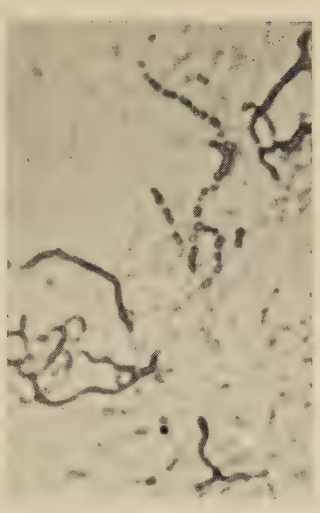


Fig. 3.

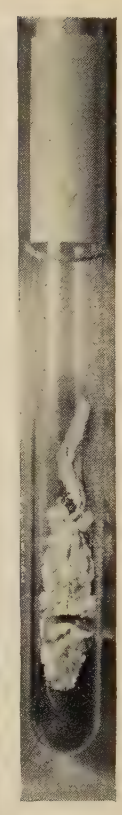


Fig. 4

Fig. 5

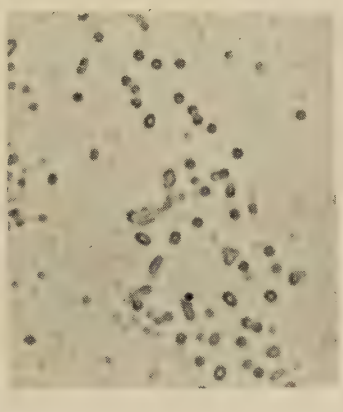


Fig. 6

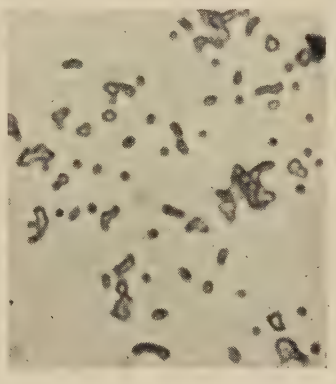


Fig. 7

Fig. 1, Spirali sporifere di *A. albus*; × 1120.
Fig. 2 e 3, Fasi successive della sporificazione e liberazione delle spore. Si osservi la diversa misura degli elementi ancora in serie nell'ifa.
Fig. 4, Aspetto caratteristico di *A. albus* in coltura.
Fig. 5, Ife del micelio vegetativo in degenerazione e simulanti una sporificazione artrospórica.
Fig. 6, Spore libere di *A. albus*. Si osservi il polimorfismo di cui è detto a pag. 148; × 1120.
Fig. 7, Come la fig. 6. Molte spore si presentano ancora riunite a simulare lunghi elementi bacillari; × 1120.

misurata in altezza di gelatina fluidificata in provette dello stesso diametro, appare assai costante (0,8—2). Tutti i ceppi alcalinizzano.

Cambio della reazione: Tutti i ceppi alcalinizzano sia in gelatina sia in acqua peptoglucosata (Tab. 3).

Azione diastasica sull'amido: La reazione varia con i singoli ceppi (Tab. 3).

Invertasi: La reazione é positiva, nelle condizioni di esperimento, solo per i ceppi: *O 1*, *C 13 R 5*.

Riduzione dei nitrati: Nelle colture in liquido di Czapek é negativa per tutti i ceppi dopo 1 mese di coltura a 25°C.

Anaerobiosi: I ceppi sottoposti all'esperimento dimostrano scarse attitudini alla vita in queste condizioni (Tab. 3).

Discussione, sinonimia e diagnosi:

Se dall'insieme delle osservazioni e prove colturali esposte é relativamente facile stabilire quali siano i caratteri che contraddistinguono l'attinomicete in studio, molto meno facile é stabilire fino a che punto le descrizioni degli AA. che ci hanno preceduto concordano con questi caratteri. Ma nell'esame degli elementi bibliografici occorre tener presente che raramente l'accettazione del nome é stata accompagnata da una discussione sulla sua legittimità. La quistione non può essere d'altro lato risolta con l'esame dei ceppi originali, poiché questi, e specialmente i più antichi, sono oggi irreperibili. E' quindi necessario integrare le ricerche con un attento esame delle descrizioni. Poiché la descrizione del Gasperini (1890) si sovrappone molto bene alle osservazioni morfologiche e colturali da noi effettuate, e il Rossi-Doria, che dà il nome alla specie, rinuncia a descriverla rimettendosi a quanto dice il Gasperini stesso, noi riteniamo di prendere in considerazione il lavoro del Gasperini per la diagnosi dell'*A. albus*. Come si é detto la descrizione di Krainsky s'accorda abbastanza con questa e noi riteniamo di non dover entrare in merito circa la designazione del color grigio (grau) del micelio aereo. Abbiamo difatti osservato come questo micelio passi dal bianco al bianco sporco o bianco-grigio con il tempo e i sustrati, e ciò può giustificare l'espressione usata dal Krainsky. Non prendiamo invece in considerazione la descrizione fatta dal Waksman, la quale presenta caratteri aberranti. Fra i sinonimi di *A. albus*, riferiamo inoltre:

Cladothrix dichotoma Macé (1888) nec Cohn, della quale già il Gasperini (1892) aveva osservato che la designazione era stata fatta erroneamente, senza cioé „discutere se fosse o meno identica all'*actinomyces*". La descrizione del Macé risulta essere la prima in ordine cronologico, ma non si può prendere in considerazione a causa dell'errato riferimento ad una entità già descritta e diversa.

Oospora Doriae Sauvageau e Radais, (1892). Non si tratta di un nuovo isolamento, ma, come dichiarono gli AA., una nuova combinazione.

Actinomyces saprophyticus Gasperini (1892). Terminologia usata in modo provvisorio dal Gasperini per l'*A. albus* (pag. 226).

Cladothrix invulnerabilis descritta da Acosta e Grande Rossi ed isolata da contaminazione di laboratorio e da acqua, non patogena, con colonie bianche e rovescio delle colture giallognolo, e resistente ad alte temperature.

Streptothrix Gedanensis Scheele e Petruscky; *Str. candida* Petrusky; *Str. Lathridii* Petrusky; specie già da noi discusse in questa stessa rivista (Baldacci 1938).

Streptothrix leucea Foulerton; *Str. alpha* Price-Jones; *Str.pyogenes* Caminiti secondo Chalmers e Christopherson.

Cladothrix liquefaciens Hesse; *Oospora* sp. Bodin; *Streptothrix Dassonvillei* Brocq-Rousseau, secondo Duché.

Streptothrix Sanninii Ciferri. Questa specie fu isolata e descritta da Ciferri (1922), che ne sospettò l'identità con l'*A. albus*, scrivendo „non é improbabile che la specie sia simile alla *Streptothrix alba* Rossi-Doria" (pag. 11, nota 2). Sulla necessità di revisione della specie l'A. insiste nel lavoro del 1927.

Lo studio del ceppo *FA*, etichettato *A. farcinicus* non ci autorizza a concludere sulla identità di questa specie con la nostra. Possiamo invece confermare l'opinione di Puntoni, espressa nella relazione del VI Congr. Naz. Microb. 1937, e che cioé alcuni ceppi etichettati '*farcinicus*' siano simili all' '*albus*' ed altri al *Proactinomyces asteroides*. Ma é necessario per pronunciarsi definitivamente comparare la descrizione originaria di Nocard e se possibile, il ceppo, con le specie suddette.

Il ceppo *R 3 C 6* etichettato *Str. albo-flava*, proviene dalla raccolta del Sanfelice. Ignoriamo se si tratta di una nuova denominazione o se é un errore di trascrizione della *Str. albidoflava* Rossi-Doria. Il nome „*albo-flavus*" viene usato dal Waksman per indicare una nuova specie; più tardi Duché descrive un attinomicete con il nome di *A. albido-flavus* emendando la diagnosi di Rossi-Doria. Noi riteniamo che non sia possibile pronunciarsi su queste specie, senza uno studio comparativo fra gli stipiti di *A. flavus*, e similiari.

Il ceppo *AU* etichettato *A. aureus* non corrisponde né alla originaria descrizione della specie fatta da Du Bois Saint Sevrin e Mercier, né a quella che con la stessa terminologia é fatta da Waksman. A questo proposito si deve osservare che l'A. americano ha usato tale nome senza tenere affatto in considerazione la precedente descrizione dei due AA. francesi, che egli sembra ignorare. Inoltre il suo attinomicete non corrisponde nei caratteri a quello di Saint Sevrin e Mercier, e l'uso del nome da parte di Waksman é contrario alle norme di nomenclatura. I caratteri dell'*A. aureus* secondo Du Bois Saint Sevrin ricordano quelli di *A. flavus*, e perciò mentre identifichiamo il nostro ceppo come *A. albus*, facciamo riserve sulla reale entità della specie *A. aureus*.

Restano ancora da considerare le due nuove specie del Duché: l'*A. Almquisti* e l'*A. Gougeroti*. La prima é fatta dall'A. su di un ceppo proveniente dalla micoteca di Baarn con l'etichetta *A. albus* (Krainsky) Waksman e Curtis [1]) ed il Duché la eleva a nuova specie per „l'efflorescence pauvre se produisant sur les cultures pauvres "e che „la rapproche des éspecès pathogènes, en particulier du groupe '*bovis*'." La seconda proviene da una coltura della collezione del Prof. Gougerot, ed é a detta dell'A. „intermédiaire entre l'*A. albus* à efflorescence abondante et l'*A. Almquisti* à efflorescence très rare." Questi caratteri non sono a nostro avviso sufficenti per creare delle nuove specie. Difatti una „efflorescence pauvre" non significa altro che una scarsa sporificazione, e noi pensiamo che tali criteri puramente quantitativi sono contrari ad ogni norma sistematica. Il nostro ceppo *Ba 1* si presenta particolarmente con la stessa caratteristica di „efflorescence pauvre", senza per altro che appaiono diverse le forme, le dimensioni delle spore e delle catenelle sporifere. D'altro canto l'espressione del Duché „avec l'*A. Gougeroti* nous allons vers lès éspèces pathogènes, vers le group '*bovis*'" é priva di significato. La specie „*bovis*" é risultata dagli studi di Puntoni e miei, inesistente e l'indicazione del Duché sembra farci intendere le specie che noi abbiamo compreso nel genere *Proactinomyces* (= *Asteroides* Puntoni) e che costituisce un genere distinto da *Actinomyces* ed appartenente ad una famiglia diversa (Baldacci, 1939). In conclusione noi non riteniamo di poter diversificare le due specie del Duché; a meno che non vi siano caratteri più importanti di quelli esposti, e le includiamo fra i sinonimi di *A. albus*.

[1]) Non é detto se si tratta del ceppo studiato da Waksman.

Poche sono le varietà descritte della specie in studio e le elenchiamo a seguito nell'elenco dei sinonimi.

Riteniamo invece utile soffermarci più a lungo circa le specie *Actinomyces chromogenus*; *Actinomyces odorifer*; *Actinomyces thermophylus* ,che, come vedremo, si identificamo con *A. albus*.

Il Gasperini descrive nel 1891, una nuova specie di *Streptothrix*, che differenzia dalla precedente (*Str. Foersteri* = *A. albus*) indicandola come cromogena, per il potere di pigmentare fortemente i sustrati. In questo lavoro l'A. non dà per altro la grafia latina della specie; il Rossi-Doria proponeva per questa il binomio: *Streptothrix nigra*, terminologia rifiutata dal Gasperini (1894) in tal modo: „l'appellativo di „*chromogenus*" é poco adatto perché si é visto che non é essa la sola a produrre colori su vasta scala, né la sola a giungere fino al nero". Per la stessa ragione non si addice l'appellativo „*niger*".

Il Gasperini é per altro incerto fin dal primo lavoro se distinguere questa specie dall'„*albus*": „non é qui fuor di luogo la domanda se la distinzione specifica fra le due *Streptothrix* possa farsi senza valido appoggio dal lato morfologico o se in altri termini sia l'una da considerarsi rispetto all'altra come una varietà. Quantunque, in base a tutto ciò che ho esposto, sembri facile rispondere in favore della distinzione specifica, pure tenendo conto delle variazioni durevoli delle forme e delle funzioni nei microorganismi, specialmente della funzione cromogena, si rendono necessarie ulteriori indagini per meglio apprezzare il valore dei caratteri, e quindi per risolvere la quistione con sicurezza maggiore." Nel lavoro del 1892, scrive: „solo per intenderci chiamerei *Actinomyces saprophyticus* la specie più comune descritta da me come *Foersteri*, della quale poi considererei come varietà l'*Actinomyces cromogenus*, ecc." Ma nel lavoro del 1894, i termini sono invertiti: „Le colture bianche di questa specie (*A. chromogenus*) fanno pensare che l'„*albus*" anziché un *Actinomyces* a sé non stia altro a rappresentare che l'avvenuta perdita del potere cromogeno di specie o varietà distinte."

I caratteri differenziali dell'*A. chromogenus*, indicati da Gasperini sono: la pigmentazione della gelatina, della patata, dell'amido, del siero di sangue, e la colorazione della colonia (micelio vegetativo) in ocra (cfr. la varietà: *ochroleucus* Neur. e il ceppo di Jensen) od in avana fino a nero. Egli stesso ammette che il potere cromogeno può perdersi con trapianti ripetuti in brodo e in gelatina. Lo studio dei ceppi, esposto precedentemente, mostra chiaramente che il potere pigmentante può mancare irregolarmente (tab. 2 e 3) ma che non esistono altre differenze oltre questa. Ci sembra quindi necessario concludere per la sinonimia di questa specie con l'*A. albus*, alla quale si deve riconoscere il potere cromogeno, con variazioni fino alla perdita in rapporto alla coltura e all'età. Fra i sinonimi di *A. chromogenus*, il Gasparini considera, oltre la *Cladothrix dichotoma* Macé, anche le due *Oospora* di Sauvageau e Radais, che noi preferiamo porre fra i sinonimi dubbi a causa della difficoltà di comparare queste specie con l'„*albus*" dalla sola descrizione.

Con il binomio *Cladothrix odorifera*, Rullmann (1896) descriveva un attinomicete dall'odore di terra, che egli stesso riconosceva successivamente e nello stesso anno identico alla *Cladothrix dichotoma* (Macé) Günther nec Cohn. Le differenze consistevano nella diversa intensità di pigmento diffusibile al sustrato. Si ripeteva così quanto si é detto sopra per i ceppi di Gasperini. Lehmann e Neumann nel loro trattato riportano la specie di Rullmann, come la *Cladothrix dichotoma* Macé, in sinonimia con *A. chromogenus* (di cui essi danno la grafia „*chromogenes*"). Tale sinonimia veniva accettata dai trattatisti posteriori. Alla specie di Rullmann veniva attribuito la caratteristica alterazione del „sapore di muffa" nei vini, in prove sperimentali compiute da Peglion. Nella letteratura

successiva la specie é pochissimo ricordata, né vi sono ricerche sistematiche condotte su di essa; il Lieske studia im ceppo proveniente da Kral, forse identico a quello studiato da Peglion, a spore cilindriche. Altri AA., che qui si tralascia di citare, fanno riferimento a ceppi di *A. odorifer*, in ricerche sulla biologia degli attinomiceti. L'esame dei due ceppi in nostro possesso ha potuto confermarci che la specie si identifica con l'*A. albus*.

Con *Actinomyces thermophylus* é stato specificato, secondo molti AA., un attinomicete caratterizzato dallo sviluppo alle alte temperature (verso i 60°C.). Il Berestneff descrive un attinomicete con questo nome fin dal 1891. Anche il Miehe nel 1907 torna a isolare un ceppo termofilo che identifica con la specie di Berestneff. Pochi anni prima il Gilbert (1904) aveva compiuto uno studio su questa specie, dando un ampio saggio degli isolamenti di ceppi termofili, ma ignorando la descrizione originaria di Berestneff, ed isolando e descrivendo a sua volta un ceppo, le cui caratteristiche non sembrano per altro corrispondere con quelle del ceppo di Berestneff, poiché possiede micelio aereo grigio. Secondo l'A. il ceppo é identico a quelli di Kedzior, Sames, Tsiklinsky (n. I). Date le differenze con il ceppo di Berestneff l'uso della stessa terminologia da parte del Gilbert é contrario alle norme di nomenclatura.

Schütze tornò a studiare, nel 1908, due ceppi di attinomiceti termofili, il primo dei quali presenta delle caratteristiche assai analoghe all'*A. chromogenus* ed il secondo *A. monosporus* deve considerarsi una specie di *Micromonospora*, forse *M. coerulea* Jensen [1]). Lo Schütze osserva che é possibile coltivare gli attinomiceti termofili a temperature più basse in mezzo acido. Lehmann e Neumann e De Rossi ritengono che le caratteristiche dei ceppi termofili siano simili a quelli dell'*A. chromogenus*, e che l'unica differenza consista nello sviluppo a temperature diverse. Le ricerche di Lieske provano per altro che lo sviluppo di attinomiceti a temperature di 60°C. é facilmente ottenibile da isolamenti da terreno su piastre di agar di carne lattosato fluido, e l'A. ne deduce che gli stipiti termofili sono forme di adattamento o di mutazione di attinomiceti non termofili.

In base a quanto si é esposto e alle ricerche sulla temperatura di sviluppo, riferite a pag. 151, si può concludere che il binomio *A. thermophylus* é stato usato da varii AA. per indicare specie fra loro diverse, ma che nella originaria descrizione esso é sinonimo di *A. albus*. La caratteristica di sviluppare ad alte temperature é comune a varie specie di attinomiceti. Così il Bergey illustra due specie termofili, di cui una per altro é forse identica all'*A. albus*. Sulla specie termofila di Ascione non é possibile pronunciarsi data la mancanza di caratteri che la possono identificare.

Volendo riassumere quanto é stato precedentemente illustrato e discusso a proposito delle specie riferite, noi riteniamo che le attività cromogene, l'emissione di odore, la resistentenza e lo sviluppo alle alte temperature siano fattori comuni a varie specie e che esse non possano in ogni caso essere prese in considerazione per la diagnostica delle specie. Si potranno invece utilmente considerare tali caratteri per la costituzione di un sottogenere comprendente le specie aventi una o tutte queste caratteristiche.

Diamo a seguito l'elenco dei sinonimi e una diagnosi dell'*Actinomyces albus*, come risulta dal nostro studio.

Actinomyces albus (Rossi Doria) Gasperini, 1894
= *Cladothrix dichotoma* Macé nec Cohn, 1888
= *Streptothrix Foersteri* Gasp. nec Cohn, 1890
= *Streptothrix* n. 2 e n. 3, Almquist, 1890

[1]) In Lehemann e Neumann é indicato un *A. glaucus*, termofilo, a spore verdi. Di questa specie non vi é indicazioni in Schütze, al quale é pure attribuita. Noi pensiamo trattarsi forse di un sinonimo di *A. monosporus*.

= *Streptothrix alba* Rossi Doria, 1891
= *Actinomyces saprophyticus* Gasperini, 1892
= *Oospora Doriae* Sauvageau et Radais, 1892
= *Cladothryx liquefaciens* Hesse, 1892 (fide Duché)
= *Cladothryx invulnerabilis* Acosta e Grande Rossi, 1893
= *Actinomyces chromogenus* Gasperini, 1894
= (*Streptothrix nigra* Rossi Doria, 1891)
= *Streptothrix gedanensis* I Scheele et Petruscky, 1897
= *Streptothrix graminearum* Berestneff, 1898
= *Actinomyces thermophylus* (Berestneff) Miehe, nec Gilbert, 1898
= *Cladothryx odorifera* Rullmann, 1898
= *Actinomyces chromogenes* Gasp. β *alba* Lehmann et Neumann, 1899
= *Oospora sp.* Bodin, 1899 (fide Duché)
= *Oospora alpha* Price-Jones, 1900 (fide Chalmers et Ch.)
= *Streptothrix leucea* Foulerton, 1902 (fide Chalmers et Ch.)
= *Streptothrix candida* Petruscky, 1903
= *Streptothrix Lathridii* Petruscky, 1903
= *Streptothrix Dassonvillei*, Brocq-Rousseu, 1907 (fide Duché)
= *Streptothrix pyogenes* Caminiti, 1907 (fide Chalmers et Ch.)
= *Actinomyces albus* Krainsky, 1914
= *Streptothrix Sanninii* Ciferri, 1922
= *Actinomyces Almquisti* Duché, 1934
= *Actinomyces Gougeroti* Duché, 1934

Sinonima dubia:

= *Oospora Metchnikowi* Sauvageau et Radais, 1892
= *Oospora Guignardi*, Sauvageau et Radais, 1892
= *Actinomyces albus* (Krainsky) Waksman et Curtiss, 1919
= *Actinomyces thermodiastaticus* Bergey, (1919) 1925

Varietas:

Actinomyces albus v. *acidus*, Neukirch, 1902 (fide Nannizzi)
Actinomyces albus v. *ochroleucus*, Neukirch, 1902 (fide Wollenweber)
Actinomyces albus v. *toxica*, Rossi, 1905
Actinomyces albus v. *cretaceus* (Krüg.) Wollenweber, 1920
Actinomyces albus v. α Ciferri, 1927

Diagnosi. Micelio vegetativo ialino, intero, di meno di 1 μ di diametro, ramificato, talora con filamenti ad andamento sinuoso, con ramificazioni ad angolo retto; micelio aereo fertile, ialino o subialino, settato, di 1—1,4 μ di diametro, con filamenti che terminano ad uncino e ad spirale. Spore ovoidali e meno spesso ovali, di 0,6—0,7 × × 1—2 μ di diam.

In coltura il micelio vegetativo si presenta incoloro e nel rovescio della coltura più o meno giallo, in rapporto all'età e al potere cromogeno. Il micelio aereo é da prima bianco; con l'invecchiamento e con il contenuto di sostanza azotata dei sustrati può variare tonalità; le tinte che più spesso assume sono da bianco-avorio, a bianco-latteo, e bianco opaco o sporco. La vegetazione aerea dà alla coltura un aspetto tipico polverulento o cretoso, a secondo della maggiore o minore attitudine dei ceppi a sporificare più o meno abbondantemente. Altra caratteristica che varia con i ceppi e la loro provenienza ed il loro isolamento é l'attitudine a pigmentare il sustrato che può diventare fin nero. Costante

é l'odore di muffa che tramandano le colture. Possiede alcune notevoli attività biochimiche.

Habitat: diffuso in tutti i mezzi, dall'acqua all'aria, al terreno; isolato da casi patologici diversi; é specie oltremodo diffusa ed ubiquitaria; può causare il muffito nei vini ed é capace di altre alterazione in rapporto ai mezzi su cui sviluppa. E' stato isolato nell'intestino di Termiti.

b) Actinomyces viridis

Quanto si verrà esponendo sulla specie in titolo é, una volta di più, la riprova della confusione sulla sistematica di questi microorganismi e della necessità di una revisione. Questa specie é stata difatti descritta per ben tre volte come specie nuova, e, ciò che é ben più strano, con lo stesso nome! Una quarta volta é stata descritta con nome similiare.

Nel 1903 Lombardo Pellegrino descriveva con il nome di *Streptothrix viridis* un microrganismo caratterizzato dalla pigmentazione in verde, da verde pistacchio e verde cupo, fino a nero, dei sustrati di coltura. L'A. rilevava alcuni caratteri morfologici, asserendo che il microrganismo era formato da filamenti sottili, intrecciati, leggermente ondullati, ramificati ad angolo retto se corti, ad angolo acuto se lunghi. Con l'invecchiamento i filamenti si fragmentano in forme bacillari o coccisimili. In coltura si ha la formazione di una polvere bianca leggera, costituita da ife aeree sporigene. Le colonie appaiono di due tipi minutamente descritti. Secondo l'A. il micelio aereo da prima é bianco e poi grigio-verde. Può sviluppare in anaerobiosi ma perde in tal caso il potere cromogeno. E' patogeno per le cavie, conigli e gattini, inoculato sia in addome, giugulare, trachea e sacco congiuntivale. E' stato isolato dal sottosuolo.

Krainsky nel 1914 descrive un attinomicete isolato da terra di giardino e che chiama *A. viridochromogenes*. Le caratteristiche sono in riassunto, le seguenti: colonie di media grandezza, grigioscure, con micelio aereo bianco che più tardi si presenta grigio azzurro. Il micelio vegetativo arriva fino al nero. Cromogenesi. Spore ovali di 1,2 μ di lunghezza; non attacca la cellulosa; non ha azione diastasica che debolmente; riduce i nitrati; non é, o solo scarsamente, proteolitico. Appaiono evidente alla descrizione le somiglianze con il ceppo di Lombardo Pellegrino.

Waksman isola nuavamente la specie, notando un diverso comportamento fra i vari ceppi. Osserva la formazione di spirali, e le spore sono descritte come ovali o rotonde (vedi quanto si é detto a pag. 148). Il Waksman accetta il binomio di Krainsky, ma emenda la specie.

Millard e Burr descrivono nel 1926 come nuova specie e con il nome di *A. viridis*, un attinomicete patogeno per i tuberi di patata, che non presenta sostanziali differenze dalle descrizioni sopradette. Le spore sono dette cilindriche; le ramificazioni irregolari; il colore del micelio aereo è verde.

Duché nel 1934 descrive a sua volta come nuova specie e con lo stesso nome *A. viridis*, un attinomicete non diverso dai precedenti. Secondo l'A., la specie é caratterizzata dallo sviluppo abbondante su mezzi neutri o acidi; dalla efflorescenza precoce verde chiaro, dai talli a contorni netti e da un pigmento violaceo. Morfologicamente la specie ha ramificazioni più serrate e più corte dell'*A. albus*. La specie é trovata in associazione con un ceppo di *A. albus* e con uno di *A. lavandulae*. Secondo Duché un'altra specie, indicata come *A. alboviridis*, si distingue dal precedente per la mancanza di pigmento del sustrato.

E' molto strano che la descrizione di Lombardo Pellegrino sia stata ignorata da tutti questi AA., quando essa é ricordata dal Lieske, dal Sartory, e dal Wollenweber (in Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten v. 3, p. 2°, pag. 836).

Noi abbiamo potuto effettuare un confronto fra i ceppi di Waksman e Millard e Burr gentilmente rimessici dalla direzione del Centraalbureau voor Schimmelcultures di Baarn (Olanda), e siamo quindi in grado di stabilirne l'identità e di dare della specie una diagnosi del resto non molto diversa dall'originaria descrizione di Lombardo Pellegrino ed una sinonimia:

Actynomyces viridis Lombardo Pellegrino, 1903
= *Actinomyces viridochromogenes* Krainsky, 1914
= *Actinomyces viridochromogenus* (K) emend. Waks et C., 1919
= *Actinomyces viridis* Millard e Burr, 1926
= *Actinomyces viridis* Duché, 1934
= *Actinomyces alboviridis* Duché, 1934(?)

Diagnosi: Micelio vegetativo ialino, ramificato irregolarmente; micelio aereo ialino o subialino, settato, fertile, con filamenti che terminano a spirale. Spore ovoidali, di 0,7 × 1,4 μ.

In coltura il micelio vegetativo si presenta colorato in grigio scuro, fino a nero; il micelio aereo da prima bianco e poi grigio-azzurro o grigio-verde, secondo i sustrati. Nelle colonie molto vecchie il colore incupisce. Pigmentazione del sustrato notevole, da bruno a nero, secondo la natura di questo. Odore di muffa debole.

Habitat: Isolato dal terreno e dal sottosuolo; é patogeno per i tuberi di patata, nei quali induce una forma si scabbia. Patogeno per gli animali da esperimento(?).

c) **Actinomyces hominis** ed **Actinomyces innominatus**

La terminologia *A. hominis* ricorre più volte nella letteratura medica sulle attinomicosi, ma analogamente a quanto accade per il nome *„bovis"*, non é che un nome magazzino con il quale sono stati indicati isolamenti e colture diverse fra loro. Le attuali maggiori conoscenze delle varie specie di attinomiceti hanno fatto sì che tale nomenclatura oggi sia molto meno in uso; tuttavia noi abbiamo ritenuto utile soffermarci di nuovo su questa specie poiché siamo venuti in possesso di una coltura riferita come *A. hominis* dal Waksman e riportata nel manuale del Bergey.

Questo attinomicete fu isolato dal Foulerton, a detta di Waksman, in un caso di ascesso della mano in un uomo e probabilmente a causa della sua provenienza il Waksman si indusse a designarlo *Actinomyces hominis*, attribuendo la paternità del nome al Bostroem. Egli infatti scrive: *A. hominis* Bostroem.

Dobbiamo anzitutto rilevare che l'attribuire al Bostroem tale binomio é inesatto, poiché egli non fece mai uso di tale designazione. La specie di Bostroem fu da noi (1937) ridescritta su di un nuovo isolamento e designata *A. Bostroemi* ,a causa del mancato battesimo da parte dell'A.

Quanto al binomio *A. hominis*, l'esposizione che segue ne dimostra l'ambiguità attraverso le varie e confuse vicende sistematiche. Si attribuisce al Berestneff, talora, la paternità di un tale appellativo, tuttavia nel lavoro di questo A., che ci é stato possibile consultare, ed esclusa la tesi del 1897, non vi é traccia di tale nomenclatura. Vi sono illustrati vari ceppi di derivazione umana, e designati con termini specifici talune colture d'origine ambientale. Negli anni fra il 1896 e 1899 fanno invece uso della terminologia *Streptothrix hominis*, varii AA., fra cui ricordiamo, il Flexner, Rullmann, e Hayo Bruns. Nel lavoro dello Schabad del 1904, sono passati in rassegna molti isolamenti di derivazione umana, i quali hanno però avuto riferimenti diversi (cfr. Baldacci, 1938). Infine con il Foulerton, la terminologia *„hominis"* é usata non come designazione specifica, ma solo in rapporto alla provenienza. Secondo Sartory esiste anche una *Oospora* (*actinomyces*) *hominis* Ridet, 1911, simile ai ceppi di Foulerton.

Una classificazione di queste specie, di cui non restano che sommarie indicazioni, si presenta oggi a nostro avviso difficile ed inutile. Di questo parere non furono Chalmers e Christopherson che tentarono una classificazione delle numerose specie patogene ed ambientali. A questi AA. va riconosciuto il merito di aver tentato un inquadramento che é stato di notevole chiarificazione per gli studi successivi. Per quanto riguarda la terminologia *„hominis"*, avendo essi voluto attribuirla ad un ceppo di Berestneff (arbi-

trattamento, perchè l'A. non l'aveva designata in alcuna maniera), si sono trovati nella necessità di coltivare una serie di ceppi ai quali hanno dato nomi nuovi, come *N. Bruni*, *N. Paulsenii*, ecc. Ma poichè i caratteri per diagnosticare tali specie sono palesemente insufficienti, è evidente che tali entità differentemente potranno essere nuovamente reidentificate in ulteriori isolamenti. Altra designazione del nome „*hominis*" si legge in Orskov, come *A. hominis* Landsteiner, ed infine in Bayne-Jones S.

In conclusione, come già scrivemmo, il binomio *A. hominis* deve considerarsi „nomen ambiguum", e da abolire. Per quanto riguarda il ceppo di cui in principio, è evidente che esso deve essere designato con altro nome, a meno che esso non si identifichi con altre specie già note. Dallo studio da noi effettuato su di un trapianto rimessoci dall'American Type Culture Collection ed etichettato „*A. hominis* Bostroem 551", risulta che esso deve essere descritto come nuova specie, e per la quale proponiamo il nome:

Actinomyces innominatus n. nomen.
= *Actinomyces hominis* Waksman (sub *A. hominis* Bostroem) 1919 nec *Streptothrix* (*Actinomyces*) *hominis* AA.

Diagnosi: Il micelio vegetativo si presenta con le caratteristiche del genere. Il micelio aereo è raro, a ciuffi bianchi. In coltura colonia umida, cerosa, molle, increspata, fortemente rilevata, di color verde o giallo verde, di crescita lenta. Pigmenta la patata e l'agar debolmente.

Spore ovali se rare fle ondulate, scarsamente ramificate, di 0,7 × 1—1,4 μ.

Riassunto

Lo studio comprende una revisione critico-sperimentale della specie *Actinomyces albus*, alla quale vengono considerati come sinonimi circa 30 nomi specifici, fra i quale *A. chromogenus*, *A. odorifer*, *A. thermophilus* p.p.; della specie è data una diagnosi ed una particolareggiata descrizione.

Sono inoltre studiate le specie *A. viridis*, (= *A. viridochromogenus*) e *A. innominatus*, n. nomen. Quest'ultima è preceduta da una breve discussione sulla specie *A. hominis*.

Summary

Twenty-six strains of *Actinomyces albus* are studied redescribed from morphological, cultural and biochemical standpoints. Many biological activities of *A. chromogenus*, *A. odorifer* and *A. thermophilus* are in common with other species of the same genus, so that they may be considered for sub-specific, (not specific) differentiation. A discussion on *A. farcinicus*, *A. albidoflavus* and *A. aureus* has been originated from mislabeling as *A. albus*; the group including the two last named species („*flavus*" group) must be revised. A few strains classified *A. farcinicus* are in no doubt true *A. albus*, but this real specific entity remains to be revised from Nocard's strain. *A. viridis*, for the first time described by Lombardo-Pellegrini, has been redescribed three times as a new species under the same binomial and the fourth as *A. viridochromogenes*. *A. hominis* Bostroem is an uncorrect determination for the species originally described by Waksmann and Curtiss, and it is renamed *A. innominatus*, the binomial *A.* (*Streptothrix*) *hominis* Auct. being a „nomen ambiguum". In conclusion, 30 binomial are appended in sinonimy to *A. albus*, including *Cladothrix dichotoma* Macé (1892) non Cohn, *C. invulnerabilis* Acosta et G. Rossi, *C. odo-*

rifera Rullm. *Actinomyces chromogenus* Gasp., *A. thermophilus* Auct., p.p., *A.* (*Streptothrix*) *Sanninii* (Cif.) Westerd., *A. Almquisti* Duché, *A. Gougeroti* Duché, and so on.

Bibliografia

Acosta E. Y. e Grande Rossi F., Chronica medico-quirurgica de la Habana n. 3 (1893). — Almquist E., Zeitschrift f. Hygiene und Inf. **8**, 180—196, (1890). — Ascione G., Ann. Igiene Sper. Roma, **37**, 429—437, (1927). — Baldacci E., Mycopatologia, **1**, 68—76, (1938); **2**, (1939); Atti Ist. Bot. Pavia, **9**, 243—271, 299—314, (1937); **10**, 125—160, 321—329, (1938); Atti VI Congresso Naz. Microbiologia, Milano, 138—147, (1937); Boll. Soc. Ital. Biologia Sper., **13**, 11, (1938). —Baldacci E., Ciferri R., Vaccari E., Atti Ist. Bot. Pavia, **11**, 75—103, (1938) — Bayne Jones S., Journ. Bakt., **10**, 569—576, (1925) — Berestneff N., Zeitschrift f. Hygiène and Inf., **29**, 94—113, 1898 — Bergey ecc., Manual of Determinat. Bacteriology, (1925) — Bruns H., Centralbl. f. Bakt., II Abt. **26**, II, (1899) — Chalmers e Christopherson J. B., Ann. of Trop. Med. and Parassit., **10**, 223—276, (1917) — Ciferri R., Rivista di ampelografia, **3**, (1922); Centralbl. f. Bakt., II Abt., **71**, 80—93, (1927); Rivista di Patologia Vegetale, **17**, 265—281, (1927) — Cohn F., Beiträge z. Biologie d. Pflanzen, **1**, 186—188, (1875) — Cortese F., Boll. Ist. Sierot. Milanese, (2) (1931) — De Toni e Trevisan in Saccardo, Sylloge VIII, 927—928, (1898) — Drechsler C., Bot. Gazette, **67**, 64—83, 147—168, (1919) — De Rossi G., Microbiologia agraria e tecnica, (1927) — Du Bois Saint-Severin e Mercier, Ann. Méd. Nav. Colon., **63**, 253—260, (1895); Semaine Med., **15**, 202, (1895) — Duché J., Les Actinomyces du group Albus, (1934) — Flexner S., in Rullmann, (1914) — Foulerton A. G. R., The Lancet, (**1**), 151 e seg., (1910) — Gasperini G., Ann. de Micrographie, **2**, 449—473, (1890); Atti Soc. Toscana Sci. Nat. P.V. VII, 267—277, (1891); Ann. Istit. Igene. Roma, **2**, (n.s.), 167—229, (1892); Atti Soc. Toscana Sci. Nat. P.V., IX, 64—89, (1894) — Gilbert, Zeitschrift f. Hygiene und Inf. **47**, 383—406, (1904) — Grigorakis L., C. R. Acad. Scienc., **193**, 540, (1931); ibidem **194**, 641, (1932) — Jensen H. L., Prooc. Linnean Soc. New S. W., **61**, 334—370, (1931) — Krainsky A., Centralb. f. Bakt., II Abt. **41**, 649—688, (1914) — Lachner-Sandoval, Über Strehlenpilze, Strasburgo, (1898) — Lehmann K. B. e Neumann R., Compendio e atlante di Batteriologia, (Milano) (1910) — Lieske R., Morphologie und Biologie der Strehlenpilze, (1921) — Lombardo-Pellegrino P., La riforma medica, (39), 1065—1067, (1903) — Macé E., Les substances alimentaires etudiées au microscope, ecc; Parigi (1891) — Miehe, Die Selbsterhitzung des Heues, Jena, (1907) — Millard B. e Burr S., Ann. Applied Biology, **13**, 580—644, (1926) — Neukirch, Ueber Strahlenpilze (Actinomyceten), Strasburgo, (1902) — Orskov P., Investigations into the morphology of the ray fungi, (1923) — Peglion V., Le Stazioni Sperimentali Ital., **33**, 525—531, (1900) — Pinoy E., Bull. Ist. Pasteur, **11**, 929 e seg., (1913) — Pollacci G., Trattato di Micopatologia. IV. Nannizzi A. Repertorio Sistematico dei miceti dell'uomo e degli animali. Siena, (1934) — Puntoni V., Ann. Igiene, Roma, **41**, 1—30 estratto, (1931); Atti VI Congr. Naz. Microbiologia, Milano, 17—51, (1937) — Rossi C., Ann. Igiene Sper. Roma, **9**, 693—708, (1905) — Rossi Doria R., Ann. Igiene, Roma, **1**, 399—428, (1892) — Rullmann, Centralbl. f. Bakt., II Abt., 116—117, 701—706, (1896); Münchener Med. Wochenschrift, (29), (1898); (13), (1899); (22), (1902); (36) (1914) — Sanfelice, Centralbl. f. Bakt., I Abt., **36**, 355—367, (1904) — Sartory A., Champignons parasites, ecc. 1921 — Sauvageau et Radais, Ann. Ist. Pasteur, Parigi, **6**, 242, (1892) — Schabad, J. A., Zeitschr. f. Hygiene und Inf., **47**, 41—80, (1904) — Schütze H., Archiv f. Hygiene, **30**, 35, (1908) — Vuillemin P., Les champignons parasites et les mycoses de l'homme, (1931) — Waksman S. A., Soil Science, **8**, 71—207, (1919) — Wollenweber H. W., Berichten Deutch. Bot. Gesells., **39**, 26—30, (1921) —

Segnalazione dello *Sporendonema epizoum* (Cda.) Cif. et Red. su frutti di dattero in Libia

per

R. Ciferri e P. Redaelli

(*Istituto Botanico della Facoltà Agraria, R. Università di Firenze. Istituto di Anatomia ed Istologia Patologica, R. Università di Pavia*).

(4.IV.1939)

Lo *Sporendonema epizoum* (Cda.) Cif. et Red. é uno degli Hyphales che, per le sue attitudini saprofitarie, ubiquitarie e cosmopolite, ma anche per la facoltá di vivere da parassita dell'uomo e degli animali, per trovarsi su molte derrate e manufatti alimentari e per l'accertata patogenicita per i viventi, (sotto certe condizioni), ha sofferto numerosissime duplicazioni. Inoltre, la sua morfologia piuttosto complessa e facile ad essere interpretata variamente, e la conseguente difficoltá di sistemare il genere nei quadri micologici, han fatto si che la posizione sistematica sia tuttora controversa, malgrado il lungo studio culturale, morfologico e biologico al quale sottoponemmo noi stessi (1934) una serie di ben 21 ceppi, tra i quali un trapianto del ceppo autentico di *Hemispora stellata* Vuill. ed uno dell'*Oospora d'Agatae* Sacc. Le conclusioni alle quali giungemmo, pur non essendo state, sino ad oggi, contraddette, stentano a farsi largo, mentre tende a perpetuarsi la confusione che ha avuto origine con Castellani e la serie delle *Hemispora rugosa*, funghi blastosporo-artrosporici che nulla hanno in alcun modo a vedere con gli *Sporendonema* del gruppo *Hemispora stellata*.

Senza ripetere quanto avemmo a scrivere nella monografia succitata (1934), basterà qui accennare al fatto che, scartando i generi *Torula* ed *Oospora*, ritenemmo opportuno riconvalidare il genere *Sporendonema* Desmazières (1827) nel senso di Oudemans (1885) antecendente a *Catenularia* Saito (1904), ed assegnare allo *Sporendonema epizoum* (Cda.) Cif. et Red. (1934) i seguenti sinonimi: *Torula epizoa* Corda (1829); *Oospoa ochracea* Corda (1837); *Torula sacchari* Corda (1840); *Torula epizoa* var. *muriae* Kickx (1847); *Sporendonema Sebi* Fries, p.p. (1849); *Torula rufescens* Fres. (1863); *Torula rubiginosa* Riv. (1873); *Oospora rufescens* Sacc. (1892); *Penicillium simplex* Lindn. (1901); *Catenularia fuliginea* Saito (1904); *Hemispora stellata* Vuill. (1906); *Torula saccharina* Heald et Pool (1908); *Scopulariopsis simplex* Vuill. (1911); *Oospora d'Agatae* Sacc. (1918); *Torula fuliginea* Berkh. (1923); e *Torula pulchra* Tengw. (1924).

Tra i molti substrati ove lo *S. epizoum* è capace di vivere, non sono rari quelli zuccherini, sopra i quali il fungo è più spesso indicato con il binomio di *Torula sacchari* Corda; più raramente quello di *Torula saccharina*. Non stupisce quindi che anche recentemente sia stato indicato da Klotz (1931) e quindi da Fawcett e Klotz (1932) su frutti di dattero nel Nord America, mentre non ci risulta sia stato segnalato nell'Africa settentrionale e sullo stesso substrato.

Su alcuni datteri impaccati acquistati a Firenze, e che il venditore dichiarava provenire dalla Libia, essendo prodotti nel Fezzan, erano evidenti delle coloniette puntiformi, di 1—1,5 mm. di diam., raramente sino a 2 mm., pulvinato-emisferiche, di color cioccolata o tabacine, quasi vellutate, isolate o, raramente, ravvicinate sino a confluenti, non abbondanti e localizzate solo su alcuni frutti del pacchetto. Già il semplice esame al

microscopio non lasciò alcun dubbio circa il riferimento del fungo alla specie suddetta; Il materiale seminato in vari sustrati, ha presentato una certa difficoltà nella crescita e non sempre si è sviluppato. [1])

I reperti della specie in natura sono così numerosi, e l'area geografica di distribuzione tanto vasta che poco di nuovo può dirci questa ulteriore segnalazione; ciononostante sarà da tenere in conto per gli eventuali futuri reperti del fungo come agente di micosi nell'Africa settentrionale.

Letteratura citata

Ciferri R. e Redaelli P., Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, Ser. IV, 5, 145—198, ill. 1934 — Klotz L. J., Eight Ann. Rept. Date Grower's Ass., 14—18, 1931 (R.A.M., 10, 655) — Fawcett H. S. and Klotz L. J., Calif. Agr. Exp. St., Bull. 522, 47 pp., ill. 1932.

[1]) E' curioso come un fungo che in natura si trova su un numero vastissimo di sostanze organiche, che manifesta una certa preferenza per i substrati zuccherini ad alta concentrazione, e che, inoltre, talvolta si trova quale contaminazione spontanea di altre culture, abbia frequentemente una certa difficoltá ad attecchire in substrati agarizzati. Una volta che si iniziata la prima cultura su tali substrati, il trapianto in serie è facilissimo.

Sulla presenza di miceti nella bile umana (Nota preliminare)

per

G. Luchetti e N. Di Molfetta.

(*Istituto di Patologia vegetale e Microb. agraria e tecnica ed Istituto di Patologia speciale chirur. e propedeutica clinica, R. Univ. di Pisa*)

(1.VI.1939.)

La scarsa documentazione bibliografica della presenza di specie fungine nella bile dell'uomo, le numerose segnalazioni di miceti nell'intestino umano e la dimostrata possibilità di riproduzione sperimentale di colecistiti micotiche negli animali [1]), suggerirono l'idea di ricercare la presenza eventuale di Funghi nel contenuto della cistifellea.

L'indagine è stata eseguita su 15 campioni di bile provenienti da ammalati di ulcera gastrica, ulcera duodenale e colecistite. La bile fu prelevata asetticamente durante l'atto operatorio, mediante puntura evacuatrice del fondo della cistifellea e l'isolamento dei funghi fu eseguito mediante colture a piatto su agar-fagiuoli al 2% di saccarosio.

In 12 campioni, sui 15 esaminati, si riscontrò la presenza di germi fungini più o meno abbondanti, accompagnati o non da Schizomiceti; altri due campioni presentavano soltanto scarso numero di Batteri ed uno soltanto fu riscontrato perfettamente sterile.

Dai dodici campioni contenenti Funghi si isolarono diversi ceppi fungini appartenenti a vari generi. Fra i più largamente rappresentati sono gli Ifomiceti, con predominio dei generi *Fusarium*, *Aspergillus*, *Botrytis* e *Cladosporium*; meno abbondanti i Blastomiceti e gli Attinomiceti.

Mentre per ora ci si limita a segnalare la presenza di detti microrganismi nella bile umana, si riferirà in altra Nota, più diffusamente, sullo studio sistematico, morfologico e fisiologico delle specie isolate e sulla ricerca di un loro eventuale potere patogeno per gli animali.

Da prove già eseguite é risultato che molti dei ceppi fungini isolati dal contenuto della cistifellea sono capaci di più o meno rapido ed abbondante sviluppo su di un substrato costituito da bile umana agarizzata, senza alcuna aggiunta di altre sostanze plastiche od energetiche.

---

[1]) Morone, G. — Colecistiti micotiche sperimentali. Tip. Coop. Pavia, 1929 e Arch. Ital. di Chirurgia, vol. XXVI, Fasc. 2°, 1930.

Estudio micologico de un caso de Micetoma por *Cephalosporium* en Puerto Rico

Por

Arturo L. Carrión.

(*Escuela de Medicina Tropical, San Juan, Puerto Rico*).

Con láminas XXIII—XXIV
(11.VI.1939.)

El hongo cuyo estudio presentamos en esta comunicación procede de las lesiones de un enfermo que padecía de Pié de Madura (lám. XXIII, fig. 1), descubierto hace pocos meses por el Dr. Roberto Busó Carrasquillo en el Hospital Mimiya, Ciudad de San Juan. El historial clínico de este enfermo ha sido ya publicado (1). Es digno de notarse que en nuestra literatura médica no se había registrado hasta ahora caso alguno de micetoma, y con la observación del Dr. Busó queda establecida definitivamente la existencia de esta micosis en Puerto Rico. El agente etiológico de la infección es interesante no sólo por su variada morfología, sino también por tratarse de un microorganismo perteneciente al género *Cephalosporium*, de cuyas especies muy pocas parecen ser patógenas.

Método de estudio. — Exprimiendo los trayectos fistulosos y las tumoraciones del pié enfermo, obteníamos constantemente un líquido espeso, amarillo-verdoso, teñido de sangre, en el cual se ahallaban suspendidos numerosos gránulos muy característicos. Algunos de estos gránulos fueron sometidos directamente al examen microscópico, después de montarlos en laminillas con solución de potasa al 10 por ciento. Luego tomamos otros y, depositándolos en un platillo de Petri, los lavamos varias veces en suero fisiológico estéril, los trituramos con la aguja de inoculación y, finalmente, mezclamos los pequeños fragmentos con otro poco de suero fisiológico fresco, utilizando esta mezcla para hacer siembras en agar glucosado al 4 por ciento.

Una vez aislado el hongo de las contaminaciones, procedimos a cultivarlo en medio de prueba de Sabouraud, en agar glucosado al 4 por ciento, y en agar de Czapek, anotando semanalmente las características macroscópicas de las colonias. Para estudiar su morfología microscópica, hicimos siembras sobre portaobjetos, usando los tres medios ya indicados y, además, agar-maíz. Immediatamente antes de hacer nuestras observaciones, dejábamos escurrir varias gotas de alcohol (80 por ciento) sobre la laminilla, vertíamos en seguida un poco de solución de potasa al 10 por ciento, y luego depositábamos cuidadosamente el cubreobjeto sobre la preparación. En el curso de este estudio utilizamos también varios cultivos en agar inclinado, disociando fragmentos de la masa miceliana y montándolos luego en solución de potasa, y, finalmente, cultivamos el hongo en gota colgante para observar las distintas fases de la esporulación.

Para orientarnos mejor en la identificación específica del parásito hemos hecho un estudio comparativo de seis especies cefalospóricas cuya presencia en lesiones humanas había sido ya observada por otros autores. Estas son: el *Cephalosporium acremonium*, Corda 1839 (2); el *C. rubrobrunneum cerebriforme Hartmannii*, Benedek 1928 (2); el *C. asteroides griseum Grützii*, Benedek 1928 (2); el *C. niveolanosum*, Benedek 1928 (2); el *C. Serrae*, Maffei 1930 (2); y el *C. recifei*, Leão et Lobo 1934 (3). Una de estas especies, el *C. recifei*, la obtuvimos por cortesía de nuestro distinguido colega, el Dr. F. P. de Almeida, del Brasil; las otras proceden del *Centraalbureau voor Schimmelcultures* en Baarn, Holanda. Hasta la

fecha, no hemos logrado conseguir otros diez especies [1]) del mismo género que fueron también descubiertos en lesiones humanas, encontrándose, entre estos últimos, tres especies de particular interés para nosotros, por ser las que más se parecen al hongo que vamos a describir en seguida.

Fase parasitaria. — En los tejidos y en el exudado que fluye de los trayectos fistulosos, el hongo se encuentra bajo la forma de pequeños gránulos blancuzcos, de consistencia blanda, y de forma lobulada e irregular (lám. XXIII, fig. 2). Estos gránulos, cada uno de los cuales representa una colonia del parásito, no alcanzan un milímetro de ancho, pero pueden medir hasta 1.5 milímetro de longitud. Cuande se les examina en al microscopio a gran aumento (400 diám.) se nota una masa de aspecto granuloso en cuya superficie hay siempre numerosos leucocitos. Disociando y aplastando el material patológico entre la laminilla y el cubreobjeto se advierte que cada gránulo está constituído principalmente por una trama de filamentos micelianos bien definidos, de 2 a 3.5 micras de diámetro, ramificados y con tabiques transversales dispuestos a distancias muy variadas. La membrana celular de estos filamentos es gruesa y lisa, il protoplasma es granuloso y contiene gotas relativamente voluminosas, esféricas y refringentes. Abundan también los clamidosporos caracterizados por su gran tamaño y por su forma ovalada o globosa.

Morfología de las colonias en placas de agar. — Los cultivos en placas tienen características bastante precisas que pueden apreciarse muy bien tres semanas después de la siembra. Estas características varían, naturalmente, de acuerdo con los ingredientes utilizados en la preparación del medio.

En agar de Sabouraud (lám. XXIII, fig. 3) las colonias son de contorno circular y algo festoneado, y miden 3 cm. de diámetro, poco más o menos. notándose en la parte central de cada colonia una eminencia cupuliforme y lisa, cuyo punto culminante se eleva unos 6 mm. sobre el nivel del medio. La capa superficial de esta eminencia está constituída por hifas aéreas, de color blanco, entretejidas unas con otras como las fibrillas del algodón. Por fuera de la cúpula central el cultivo desciende en suave declive y presenta algunos surcos radiados de poca profundidad. En esta última zona la capa de hifas aéreas no es tan espesa como en la parte central y su coloración es ligeramente rosada. Al examinar las colonias por el reverso, observamos que su color es pardo oscuro, excepto en los bordes donde falta el pigmento. Se advierte, además, que los surcos ya mencionados se extienden hasta la zona central, agrietando a veces el medio de cultivo.

En agar glucosado al 4 por ciento (lám. XXIII, fig. 4), se producen colonias de color lila, más aplanadas y extensas que en agar de Sabouraud, llegando a medir hasta 5.5 cm. de diámetro y aún más. La zona central, cuya elevación rara vez pasa de 4 mm., es de superficie irregular y el micelio que la cubre forma una capa bastante espesa, agrupándose las hifas en pequeños montículos que dan a esta parte de la colonia un aspecto moteado. La zona periférica es plana, contiene surcos radiados rectilíneos y poco profundos, y está cubierta por una ligera capa de hifas aéreas. Por el reverso se nota une pigmentación central violácea, rodeada por un halo de color blanco. La difusión del pigmento miceliano en el medio de cultivo es bien manifiesta, aunque no tanto como en los tubos de agar inclinado, donde el medio toma una coloración violeta oscura con el envejecimiento del talo.

Las características culturales son aun más interesantes en el agar de Czapek (lám. XXIII, fig. 5). En este medio las colonias presentan una gran zona central con numerosos repliegues cerebriformes diversamente orientados, alrededor de los cuales se nota otra zona de menor amplitud y bastante lisa donde faltan las eminencias y los surcos. Las hifas aéreas crecen sobre la colonia formando una espesa capa de superficie suave y pulverulenta cuya coloración, gris en la parte central, se torna gradualmente amarillo-cremosa y luego

[1]) He aquí las especies que aun no hemos logrado conseguir para estudio:
1. *C. Doukourei*, Boucher 1918 (2).
2. *C. sp.*, Negroni 1931 (4).
3. *C. pseudofermentum*, Ciferri 1932 (2).
4. *C. griseum*, Gougerot et al., 1933 (5).
5. *C. spinosum*, Negroni 1933 (2).
6. *C. Stühmeri*, Schmidt et van Beyma 1933 (2).
7. *C. Bogolepoffii* (Vuillemin) Dodge 1935 (2).
8. *C. nigrum*, Kambayashi 1937 (6).
9. *C. keratoplasticum*, Morikawa 1939 (7).

Fig. 1

Fig. 2

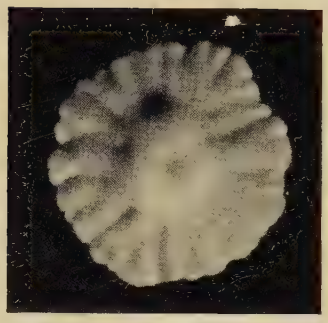


Fig. 3

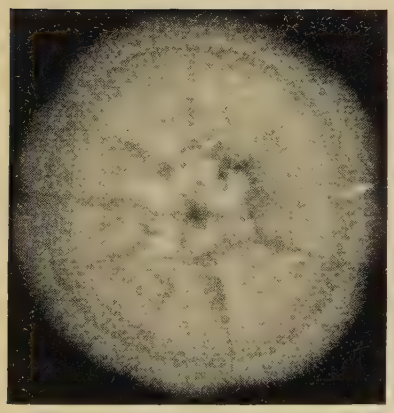


Fig. 4

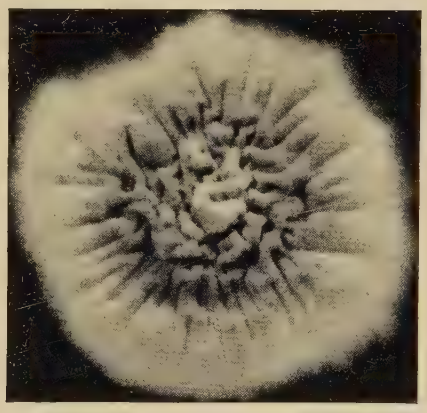


Fig. 5

Fig. 1. Piè de Madura. Caso puertorriqueño.
Fig. 2. Silueta de uno de los gránulos contenidos en el exudado (aumento 12 diám.).
Fig. 3. Colonia de 3 semanas en medio de prueba de Sabouraud (tamaño natural).
Fig. 4. Colonia de 3 semanas en agar glucosado al 4 por ciento (tamaño natural).
Fig. 5. Colonia de 3 semanas en agar de Czapek (tamaño natural).

blancuzca, yendo hacia la periferia. En el borde mismo del cultivo los filamentos superficiales disminuyen en abundancia, notándose, sinembargo, un crecimiento bastante copioso en el espesor del agar. Si se remueve la capa aérea del micelio con la aguja inoculadora, se descubrirá la membrana basal subyacente que es, en su mayor parte, de un color verde muy característico, difundiéndose la substancia colorante en el medio de cultivo. Esta pigmentación puede apreciarse mucho mejor cuando se invierte la placa. Al examinar la colonia por detrás, llama también nuestra atención la presencia de numerosos surcos cuyo curso sinuoso y finamente ondulante hace pensar en otros tantos gusanillos que estuvieran incrustados en el agar.

Caracteres microscópicos. — *Mycelium.* — El estudio microscópico del hongo nos permite descubrir una espesa trama de filamentos micelianos, numerosos ramúsculos portadores de conidios, una gran variedad de clamidosporos y, finalmente, estructuras glomerulares.

Los filamentos micelianos suelen ser muy largos; se ramifican con frecuencia y están divididos por tabiques transversales en células o artículos de diferentes longitudes. El diámetro de estos filamentos oscila entre 1.3 a 3.6 micras. Su protoplasma es granuloso y contiene una gran cantidad de materia grasa bajo la forma de pequeños glóbulos esféricos muy refringentes. La membrana celular es bastante gruesa, lisa y bien individualizada.

Esporulación. — Las hifas fértiles, simples o ramificadas, nacen caprichosamente en cualquier punto del talo, se orientan en distintas direcciones y desarrollan sus esporos en cabezuelas terminales (lám. XXIV, figs. 6 y 7). Estas hifas son de longitud bastante variada y, como el micelio vegetativo, suelen estar divididas en segmentos o artículos por tabiques transversales más o menos espaciados. Muchas de las ramas esporíferas son tan pequeñas que pueden observarse en su totalidad dentro de un sólo campo microscópico. Otras, por el contrario, son de tales dimensiones que es imposible seguirlas hasta su base, perdiéndose en el intricado retículo miceliano. Algunas de ellas disminuyen ligeramente en anchura desde el punto de origen hasta su extremidad distal, pero la gran mayoría, y particularmente las más largas, presentan un diámetro uniforme que corresponde bastante bien con el de los filamentos vegetativos.

Al comenzar el proceso de esporulación, la punta del conidióforo desarrolla un engrosamiento ovoideo, el cual queda luego separado de la hifa madre por la producción de un septum (lám. XXIV, fig. 8). Apenas el esporo así formando alcanza su madurez, sobreviene el desprendimiento, iniciándose en seguida la formación del esporo siguiente (lám. XXIV, figs. 9 y 10). Con la repetición de este proceso, los elementos esporulares se van acumulando en la extremidad del conidióforo, gracias a una substancia mucilaginosa de la membrana celular que los mantiene aglutinados formando corpúsculos esféricos muy característicos (lám. XXIV, figs. 6 y 7).

Considerados individualmente, los esporos o conidios, son alargados, de superficie lisa, de extremidades romas, algunos de contorno ovoideo, y otros, la gran mayoría, encorvados en una forma peculiar (lám. XXIV, figs. 10, 11 y 12). Su protoplasma es granuloso y contiene numerosas gotitas refringentes de materia grasa, que aumentan de tamaño a medida que el esporo envejece. En los cultivos de más de dos semanas, muchos de los elementos esporulares se nos presentan divididos por tabiques transversales en dos, tres, a veces cuatro y, excepcionalmente, cinco células. Sus dimensiones oscilan generalmente entre 9 y 12 micras de largo por 3 a 4 de ancho; pero hay algunos mucho más cortos que no pasan de 5 micras, al par que otros; muy pocos por cierto, pueden alcanzar longitudes extremas hasta de 30 micras. En los esporos de mayor tamaño, la curvatura es a menudo tan pronunciada que llega a describir un semicírculo completo. A veces, las extremidades de estos esporos gigantescos pierden, en parte, su redondez característica, tornándose más agudas y dándole a la célula un aspecto falciforme o semilunar. Finalmente, si se observan cuidadosamente los cultivos del hongo en gota colgante (en infusión de maíz, por ejemplo), se notará una gran actividad germinativa en los conidios dos o tres horas después de la siembra (lám. XXIV, fig. 13), pudiendo germinar separadamente cada una de las células constitutivas de los elementos tabicados.

El proceso de esporulación que acabamos de describir, puede comprobarse en cualquiera de los medios de laboratorio que empleamos para estudiarlo, pero la producción de conidios es más exhuberante y la morfología más notable y característica en preparaciones frescas de cultivos de 2 a 3 semanas, en medio de prueba (Sabouraud), o en agar glucosado (4 por ciento) al cabo de los 14 días.

Clamidosporos. — Los clamidosporos se producen en abundancia en los medios de cultivo sólidos después de la segunda o tercera semana. Su morfología es muy variada, pudiendo constar de una o más células (lám. XXIV, figs. 14—22). Entre las formas monocelulares, las hay esféricas, ovoides y globosas. Las esféricas miden de 5.4 a 7.6 micras de diámetro, mientras que las otras dos formas pueden alcanzar hasta 13 micras de largo. La posición del clamidosporo es generalmente terminal o lateral, pero no son muy raras las formas intercalares. Su membrana celular, más gruesa y a menudo más oscura que la del micelio, es generalmente lisa, excepto en algunos casos en que se vuelve algo irregular y festoneada a causa del envejecimiento (lám. XXIV, figs. 21 y 22). El protoplasma es granuloso, a veces de un color ligeramente aceitunado, y contiene una gran cantidad de materia grasa que suele formar, bien sea una sola masa refringente que ocupa casi toda la célula, o bien numerosas gotitas de diversos tamaños. Cuando estas gotitas son todas iguales, y esto se nota con alguna frecuencia, los clamidosporos se asemejan bastante a los sacos esporíferos de ciertos hongos ascomicéticos (lám. XXIV, figs. 19 y 21).

La morfología es más irregular en los clamidosporos multicelulares, cuyos elementos constituyentes no se desarrollan siempre de acuerdo con un método constante. Muy frecuentemente las células de estos clamidosporos, en número de dos, tres, y aún cuatro, se disponen en orden lineal (lám. XXIV, figs. 15 y 17), siguiendo a veces la orientación del ramúsculo que les dió origen (lám. XXIV, fig. 15), pero hay ocasiones en que la línea celular tiende a desarrollarse perpendicularmente a este ramúsculo (lám. XXIV, fig. 16). Cuando la multiplicación de las células ocurre en dos planos distintos, la estructura del grupo resulta, naturalmente, mucho más complicada (lám. XXIV, fig. 18). Cada célula individual está separada de su vecina por un grueso tabique que se confunde con la membrana de cubierta del clamidosporo, produciéndose con frecuencia a nivel de esta unión un estrechamiento diametral que le da al órgano un aspecto festoneado. Por lo demás, la estructura interna de cada célula en particular corresponde bastante bien con la de los clamidosporos unicelulares ya descritos.

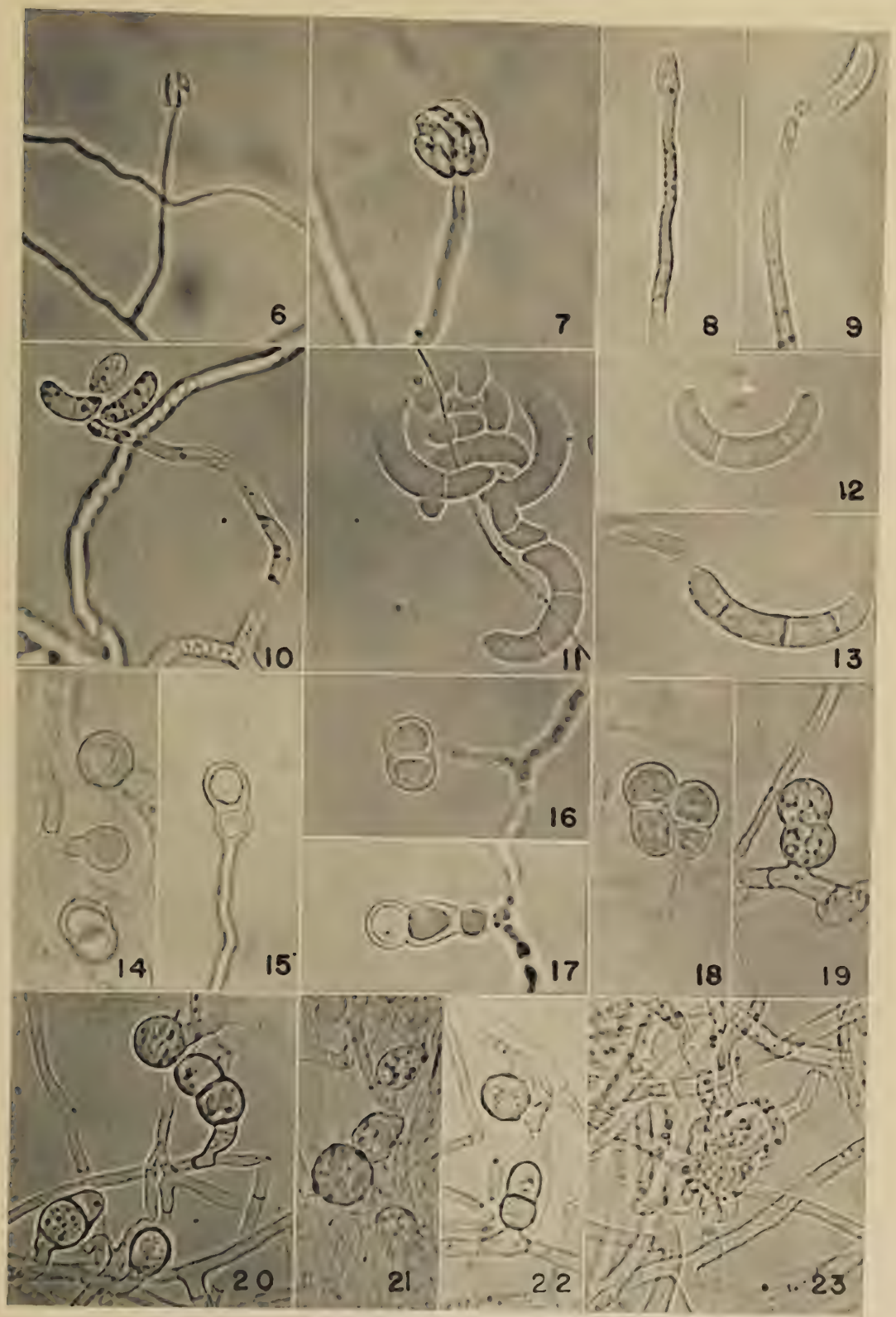
Estructuras glomerulares. — Cuando las colonias del hongo se desarrollan en agar glucosado al 4 por ciento, el examen microscópico practicado al cabo de la tercera semana nos permite observar un gran número de estructuras glomerulares muy características y bastante parecidas a los órganos nodulares de ciertos Dermatofitos. Se trata de pequeños pelotones de hifas enroscadas muy estrechamente las unas sobre las otras, algunas de las cuales se escapan para ir a formar parte de la trama miceliana circundante (lám. XXIV fig. 23). Estos pelotones miden desde 13.5 hasta 38.4 micras de largo por 11 a 22 micras de ancho. Entre los filamentos que los constituyen hay muchos de calibre normal, pero otros se ven engrosados y alterados en su morfología, de tal modo, que algunos de ellos se asemejan mucho a los clamidosporos ya descritos, por lo que sospechamos que estos últimos tienen su importancia en el proceso de formación del glomérulo.

Lámina XXIV.

Figs. 6 y 7. Cultivos sobre laminillas. Cabezuelas esporulares en sus conidióforos (aumento 600 y 1000 diám. respectivamente).
Figs. 8 y 9. Formación y desprendimiento de un esporo (aumento 1000 diám.).
Fig. 10. Esporulación en gota colgante (aumento 1000 diám.).
Figs. 11 y 12. Preparaciones frescas de un cultivo en agar glucosado al 4 por ciento. Nótese la variedad en el tamaño de los esporos, su aspecto falciforme y la tabicación interna (aumento 1000 diám.).
Fig. 13. Esporo con germinación bipolar (aumento 1000 diám.).
Figs. 14—22. Clamidosporos. Nótese: (a) la variedad morfológica y el número de células que constituyen cada elemento; (b) en las figs. 19 y 21, las gotitas intracelulares de materia grasa simulando ascosporos; (c) en las figs. 21 y 22, la forma irregular de la membrana celular (aumento 1000 diám.).
Fig. 23. Estructura glomerular en agar glucosado al 4 por ciento (aumento 1000 diám.).

Inoculaciones experimentales. — Se hicieron inoculaciones experimentales en dos curieles, dos conejos y dos monos (*Macacus rhesus*) usando, como material infectante, cultivos finamente triturados a los cuales añadíamos solución salina estéril hasta formar una mezcla bastante concentrada y fácilmente inyectable [1]).

[1]) Por causas inevitables, solamente pudimos llevar a cabo un estudio parcial de la patología experimental en este caso, por lo cual nos proponemos repetir las inoculaciones.


6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

Los curieles no acusaron signos de infección después de recibir 1 c.c. de la mezcla en la cavidad peritoneal y de haber sido frotados con fragmentos de cultivos en la piel del vientre previamente escarificada. En los conejos tampoco prendieron las inoculaciones superficiales de la piel. Sin embargo, en el testículo la inyección dió origen a un proceso inflamatorio que culminó en la formación de un nódulo sub-escrotal, el cual fué extirpado al cabo de la décima semana para cuya fecha medía unos 10 mm de diámetro. Los cultivos con material de esta lesión resultaron negativos. Al examen microscópico la lesión sub-escrotal presentaba pequeños focos histopatológicos muchos de los cuales se confundían aquí y allá haciendo más difusa la infiltración celular. En el centro de cada uno de estos focos se notaban células degeneradas, polimorfonucleares y algunas estructuras de forma irregular y de aspecto granuloso que se teñían de azul con el GRAM y el GIEMSA. Alrededor de esta parte central reblandecida había una zona compuesta de grandes monocitos macrófagos y de células gigantes, muchas de las cuales contenían en su interior estructuras granulosas como las que encontramos en la parte central. Finalmente, rodeando este proceso patológico se notaba una capa de tejido fibroso abundante en células. No fué posible reconocer estructuras fungosas bien definidas en ningún punto.

Cada uno de los dos simios fué inoculado en el dorso de ambas patas traseras. En la pata izquierda se les frotó un fragmento de cultivo, previa escarificación de la piel. El resultado del experimento fué negativo. En el sitio correspondiente de la pata derecha inoculamos subcutáneamente 1 c.c. de la suspensión fungosa a cada animal. La inyección produjo inflamación local y luego supuración. Uno de los abscesos se abrió accidentalmente a los seis días y en las siembras del exudado de esta lesión obtuvimos un cultivo puro del parásito. El proceso patológico terminó por resolución al cabo de cinco semanas.

Comentario micológico. — El microorganisme que acabamos de describir debe ser clasificado en el grupo *Fungi imperfecti*, ya que nuestras investigaciones no han revelado forma alguna de reproducción sexual. La producción individual y sucesiva de esporos terminales e hialinos, la forma elipsoidea de estos esporos y su aglutinación, formando cabezuelas esféricas en el extremo del conidióforo, nos obligan a colocar este hongo en el género *Cephalosporium* Corda.

Revisando la literatura médica, se notará que son muy pocas las infecciones humanas que han podido asociarse con hongos del género *Cephalosporium*. Debe advertirse, además, que, aún en los casos en que la investigación micológica reveló la presencia de un *Cephalosporium* en las lesiones, no siempre quedó establecido sobre base sólida la importancia etiológica del hongo, habiéndose demostrado, a lo sumo, que el microorganismo era patógeno para alguno que otro animal de experimentación. Sin embargo, se han registrado casos, como los estudiados por GOUGEROT (5), LEÃO y LOBO (3), y MORIKAWA (7), en los que la infección parece haber sido de naturaleza verdaderamente micósica, teniendo como agentes causantes diferentes especies cefalósporicas.

A nuestro juicio, el hongo que hemos presentado aquí debe ser considerado como el principal factor etiológico en el caso de micetoma estudiado por el Dr. BUSÓ. Se trataba en este caso de una enfermedad cuya naturaleza micósica es universalmente aceptada; en los gránulos que contenía el exudado pudo comprobarse la presencia de estructuras filamentosas con clamidosporos bien caracterizados e idénticos a otros que luego observamos, *in vitro*, en los cultivos del parásito; las numerosas siembras que se hicieron en distintas ocasiones con fragmentos de gránulos cuidadosamente lavados, confirmaron la existencia de un hongo cromogénico vivo, obteniéndose siempre el mismo, y ningún otro, en todos los casos; y, finalmente, las inoculaciones experimentales parecen indicar que el microorganismo es patógeno para algunos animales de laboratorio.

Entre las 15 especies cefalospóricas descubiertas en lesiones humanas, las únicas tres que por su morfología podrían confundirse con el hongo que encontramos en el caso de micetoma puertorriqueño son las siguientes: una especie informada por NEGRONI en 1931 (4); el *C. griseum* Gougerot, 1933 (5), y el *C. keratoplasticum* Morikawa, 1939 (7). Debe

advertirse aquí que ninguna de las infecciones producidas por estos tres gérmenes tenían las características clínicas del Pié de Madura. Según la descripción que hace Negroni de su especie, ésta podría distinguirse de la nuestra por tener conidióforos más cortos, por la ausencia de clamidosporos y órganos nodulares, la producción de un pigmento distinto y el aspecto diferente de las colonias en el agar de Czapek, que es donde las estudió este investigador. El *Cephalosporium griseum* diferiría también en sus hábitos cromogénicos y en la morfología de los cultivos en placas, caracterizándose, además, por la superficie espinosa de sus clamidosporos, la ausencia de órganos nodulares y el menor encorvamiento de los conidios. En cuanto al *C. keratoplasticum*, sus características culturales, la coloración del talo, el menor tamaño de sus conidios, los conidióforos cortos y no tabicados, y la ausencia de órganos nodulares lo distinguirían también de nuestra cepa.

Apesar de las diferencias que acabamos de señalar, no nos atrevemos negar por ahora la identidad de nuestra cepa con alguna de las tres especies descritas respectivamente por Negroni, Gougerot y Morikawa, teniendo en cuenta la gran variabilidad morfológica de que son susceptibles muchas especies de hongos a causa de cambios en el medio ambiente. Nos parece más juicioso dejar pendiente la clasificación específica del parásito hasta tanto consigamos cultivos de los especímenes estudiados por esos tres autores, para comparar sus características bajo las mismas condiciones en el laboratorio.

Es digno de notarse, sin embargo, que hasta la fecha solamente una vez, en el Brasil, ha podido comprobarse que un *Cephalosporium* puede ser causante del micetoma. El hongo productor de la infección en el caso brasileño fué el *Cephalosporium recifei* descrito como especie nueva por Leão y Lobo en 1934 (3). Después de llevar a cabo un cuidadoso estudio comparativo de este último parásito en nuestro laboratorio, podemos asegurar que se trata de una especie distinta de la del caso de Puerto Rico.

Resumen.

Hemos descrito un *Cephalosporium* como agente etiológico en un caso de Pié de Madura puertorriqueño. Este hongo crece bien en los medios ordinarios de laboratorio produciendo colonias características y dando origen a un pigmento difusible cuyo color varía de acuerdo con los ingredientes dal agar. Al examen microscópico, los cultivos nos revelan un gran número de conidios alargados que se caracterizan por su gran tamaño, su pronunciado encorvamiento y su tabicación interna, a más de lo cual se notan muchos clamidosporos de morfología variadísima y, finalmente, estructuras nodulares muy semejantes a las que se desarrollan en ciertas especies del género *Trichophyton*. La identificación específica del parásito ha quedado pendiente hasta tanto pueda hacerse un estudio comparativo de otras tres especies cefalospóricas que parecen guardar estrecha analogía con la nuestra a juzgar por las descripciones que de aquellas se han hecho.

Sea cual fuere su posición sistemática, la especie aquí descrita no había sido encontrada nunca antes en las lesiones del micetoma. La literatura médica solamente registra otro caso de esa enfermedad producido por *Cephalosporium*. Se trataba entonces de una infección contraida en el Brasil que tuvo como agente etiológico en parásito, distinto del nuestro, el cual fué estudiado y clasificado por Leão y Lobo como especie nueva: el *Cephalosporium recifei*.

Referencias

1) Busó Carrasquillo, R., Bol. de la Asoc. Med. de Puerto Rico. **30,** 452—455, (1938) — 2) Dodge, C. W., Medical Mycology. St. Louis, Mo. (U.S.A.) The C. V. Mosby Co., Pags. 826—831, (1935) — 3) Leão, Areia et Lobo, Jorge, Compt. Rend. Soc. de Biol., **117,** 203—205, (1934) — 4) Negroni, P., Arch. Soc. (Argentina) Biol. Supl., Fasc. **5,** 1328—1337, (1930—32) — 5) Gougerot, Burnier et Duche, Arch. Dermato-syphilographiques de la Clinique-Saint Louis, **5,** 348—357, (1933) — 6) Kambayashi, citado por Morikawa, T. (7) — 7) Morikawa T., Mycopathologia, **2,** 60—70, (1939).

Le Docteur Sabouraud

(1864—1938)

par

Dr. L. Grigoraki

(*Laboratoire de Parasitologie, Marseille*).

(20.VI.1939).

I. Raymond Sabouraud né à Nantes le 24 Novembre 1864, est mort à Paris le 4 Février 1938. Il appartenait à une famille de médecins et l'un de ses ancêtres fut chirurgien-barbier du Roi.

Arrivé à l'internat des Hôpitaux de Paris, il consacra ses quatre années (hors un court passage chez Fournier) au service de Dermatologie du Docteur Besnier, médecin à l'Hôpital St. Louis, et en même temps il suivit les cours de Microbiologie à l'Institut Pasteur.

L'appui de Roux, sous-Directeur à l'Institut Pasteur de Paris, et celui du Dermatologiste Besnier ont tracé sa carrière vers la Dermatologie au service de laquelle a mis ses connaissances microbiologiques. C'est ainsi qu'il a été amené à étudier les affections du cuir chevelu et c'est ce qui lui a valu ses remarquables travaux sur les Teignes.

Pour mieux préciser la contribution de Sabouraud, pour la mise au point de la question des Teignes, on ne saurait mieux faire qu'en donnant d'abord un bref historique des découvertes faites avant lui soit de 1837 à 1892.

II. Le rôle des Cryptogames dans les Teignes nous a été connu par Remak (1837) et Schönlein (1839) : ces savants ont été les premiers à observer et à décrire le Champignon du Favus, mais ce n'est que deux ans plus tard que Gruby nous a donné une étude parfaite de cette mycose et de son parasite. Ce même savant nous a fait connaître, de 1842 à 1844, sous le nom de Porrigo decalvans, la Microsporie et son parasite, qu'il nomma *Microsporon Audouini*, puis la Teigne tondante et enfin la Mentagre ou Sycosis parasitaire.

Devergie (1857) a différencié le Sycosis parasitaire du Sycosis pyodermique, Tilbury-Fox et Hebra (1859) ont reconnu l'origine Trichophytique et favique de l'Herpés, dont les cryptogammes ont été découverts par Béerensbrung, élève de Bazin. Tilbury-Fox (1856) a reconnu l'origine Trichophytique du Kérion de Celce que Majocchi (1875) a précisé plus tard en Italie, tandis que Leloir (1884) a décrit la folliculite mycosique agminée qui porte son nom. Aubert de Lyon (1876) a décrit les deux formes cliniques de la Trichophytie, celle d'un poil brisé entouré d'une gaine blanche et comme enfariné, et celle d'un poil noir qui résultait d'un enroulement sous-épidermique du poil. D'après Aubert, il s'agissait d'un même *Trichophyton* qui se présentait cliniquement sous deux formes différentes et cette opinion était soutenue par Bazin.

Hébra (1860) a décrit la Trichophytie Inguinale que Devergie préssentit de 1857, tandis que, plus tard, Djélaleddin-Moukhtar (1890), élève de Fournier, a décrit la Dysidrose mycosique.

Malherbe (1857) et Letenneur (1852) ont reconnu l'herpés bovin dont la contagiosité était signalée déjà par Kollrenter (1856) et Carrere (1838), tandis que Dieu (1876) établissait la contagion de l'Herpés du cheval. Fried-Berger (1876) rapporte l'histoire d'un enfant contaminé par un chien et Foger (1885) constatait la Teigne du Chat.

Quincke, Unna, Franc, Néebe, Constantin et Sabrajes, ont soutenu la pluralité des parasites du favus et ils ont séparé les Achorions des Trichophytons. Kral de Prague (1890) étudiait un autre *Achorion* que celui décrit par Remak et Schönlein, tandis que Mégnin (1881) et Malassez soutenaient la pluralité de Trichophytons. Enfin Mégnin a décrit, en 1881, *Achorion Gallinae.*

Du point de vue de cultures des parasites de Teignes les premiers essais ont été faits par Gruby et Remak, mais ce n'est que du Barry qui a reconnu les contaminations que subissaient les cultures des Dermatophytes par des saprophytes. Gravitz, puis Duclaux (1886), en quelques jours d'intervalle, ont réussi des cultures pures et Verujsky (1887), élève de Duclaux, a décrit d'une façon remarquable la morphologie du mycélium et des conidies et, il a établi que le milieu acide n'est pas favorable au développement de cultures, tandis que les sucres et les peptones sont très utiles.

En somme, pendant la période antérieur à Sabouraud (soit de 1837 à 1892), on a pu définir les syndromes mycosiques, obtenir des cultures pures de leur parasites, composer un milieu favorable pour le développement de cultures et admettre le principe de la pluralité des espèces, par la reconnaissance de quelques espèces faviques et Trichophytiques: de plus, on connaissait l'origine animale des affections mycosiques par la description de multiples cas la contagion.

III. Les premières recherches de Sabouraud sur les Teignes ont duré environ trois ans (1891—1894) et lui ont permis de présenter une douzaine de Notes que résume son livre „*Les Trichophyties Humaines*", publié en 1894. La première note publiée par Sabouraud a été présentée à la Société de Dermatologie de Paris de 10 Novembre 1892 et nous allons résumer ici les principaux résultats de ces recherches.

MICROSPORIE: Gruby décrivit, en 1843, *Microsporon Audouini*, comme l'agent spécifique du Porrigo décalvans, dénomination que les Dermatologistes réservaient à la pelade commune dont l'agent causal nous est encore inconnu. Il s'ensuivit naturellement que, recherché dans une affection où il n'a jamais existé, *Microsporon Audouini*, confondu avec les Trichophytons, passa aux yeux de tous pour un champignon chimérique. En 1894, Sabouraud, ayant lu les travaux de Gruby, s'est aperçu que la tondante trichophytique à petites spores, qu'il avait décrit deux ans auparavant comme une trichophytie, était déjà décrite par Gruby en 1843 sous le nom de Porrigo décalvans et que le parasite était appelé *Microsporon Audouini.* Il a pu ainsi rétablir les faits et depuis l'histoire des Microsporons a marché rapidement et les faits ont été confirmés et complétés par un grand nombre de savants, et surtout par les Anglais, Adamson, Fox et Blaxall, car les Microspories étaient fréquentes en Angleterre. Enfin, les travaux de Médecine Vétérinaire ont amené la découverte d'autres Microsporons, différents du *Microsporon Audouini*, et Sabouraud, entre autres, a décrit *Microsporon tardum*, *Micr. umbonatum*, *Micr. velveticum* et *Micr. pubescens.*

TRICHOPHYTIE: Les travaux les plus importants de Sabouraud en Tinéologie se rapportent surtout aux Trichophyties. Ces Teignes sont très fréquentes dans la région parisienne et il a pu présenter à la société Française de Dermatologie, au mois de Janvier 1893, cinquante quatre cas de Tondante, dont il a pu, en utilisant divers milieux, faire cinq cents cultures et identifier 19 espèces ou variétés. Il a précisé en même temps que l'étude des Teignes doit comprendre: la description clinique de la lésion, l'étude microsporique de parasites et la recherche des cultures pures que nous devons faire toujours dans les mêmes conditions physicochimiques; enfin, inspiré de travaux de Vérujsky, il a proposé son milieu d'épreuve, composé de gélose, sucre, peptone, eau et ce n'est que par la suite que le sucre a été remplacé par du maltose, glucose et lactose.

Sabouraud, en se basant sur les caractères que prend le parasite dans la lésion a formulé sa loi de spécificité des Trichophytons ou loi de correspondance entre le type clinique d'une lésion et l'espèce qui la cause et d'après ce principe a divisé les Trichophytons à un certain nombre de groupes que voici.

Dans un premier groupe de Trichophyties superficielles, sèches, d'origine humaine, Sabouraud reconnaît la division faite par Aubert en 1876, mais il trouve pour chaque type clinique des espèces particulières, soit *Trich. cratériforme* et *Trich. acuminatum.*

Dans un deuxième groupe, intermédiaire, celui de Trichophyties de la barbe à dermites superficielles humides, Sabouraud trouve des spores ou quelques filaments autour du poil au début de l'envahissement pilaire, ce qui lui a permis de créer le groupe de *Néo-endothrix.*

Dans un troisième groupe de Trichophyties à dermites profondes suppurées d'origine animale, dûes aux Trichophytons *ectothrix*, a distingué les groupes de *Microïdes* et des *Mégaspores.*

Enfin, Sabouraud nous a fait connaître plusieurs espèces de Trichophytons, dont voici les principales: *T. cratériforme, T. acuminatum, T. violaceum, T. effractum, T. fumatum, T. umbilicatum, T. régulare, T. circonvolotum, T. pilosum, T. glabrum, T. cérébriforme, T. plicatile. T. farinulentum, T. persicolor, T. radians, T. denticulatum, T. rosacéum, T. vinosum, T. ochraceum, T. album, T. discoïdes.*

Dans le domaine de la Thérapeutique de Teignes, Sabouraud a fait également oeuvre utile.

Les recherches de Freund, de Schiff, de Spiegler, de Kienbock, de Oudin et Barthélémy, de Gastou, de Vieira et Nocolau, de Brocq et Bélot, faites de 1896 à 1903, nous ont appris que les rayons X ont une action très remarquable sur la papille pilaire. A hautes doses, ces rayons détruisent la papille, mais à doses moyennes ils produisent seulement une sorte de sidération de cette papille qui cesse ses fonctions pendant un certain temps pour les reprendre ensuite. Or, quand la papille cesse de produire le poil, celui-ci devient un véritable corps étranger qui ne tarde pas à être expulsé naturellement du follicule dont les parois s'accolent jusqu'au moment où un poil nouveau viendra remplir la cavité folliculaire momentanément éffacée.

On obtient ainsi une éviction spontanée des racines pilaires et c'est là précisement ce que nous cherchons à réaliser dans le traitement radio-thérapique des Teignes. Ce principe d'ordre purement mécanique a été utilisé par le radiologue Noiré et Sabouraud, pour faire de la Radio-thérapie une méthode pratique de traitement des Teignes; il a fallu en reglementer la technique, la rendre précise et sûre; celà était d'autant plus indispensable, qu'une action insuffisante des rayons X n'entraîne pas la chute de poil et une action trop forte est suivie de radiodermite avec une alopécie définitive.

Or, une pareille conséquence ne peut être admise dans des Teignes qui guérissent spontanément et sans cicatrice à la puberté. Cette réglémentation date de 1904, elle fût l'oeuvre de Sabouraud et Noiré.

Sans m'arrêter au détail de cette technique, je dois dire qu'elle repose sur la mensuration exacte de la dose de rayons X, nécéssaire pour déterminer l'éviction pilaire sans produire de radiodermite, mensuration que l'on fait d'une matière précise et simple à l'aide du radiomètre imaginé par Sabouraud et Noiré. La radiomètre n'est autre qu'une pastille de papier au platino-cyanure de baryum qui, placée à certaine distance de l'ampoule de Crockes, vire jusqu'a une teinte déterminée correspondant à la quantité des rayons nécessaires.

Voici le tableau des Trichophytons tel qu'il a été établi par Sabouraud.

- Endothrix
  - Endothrix purs
    - Espèces types fréquentes
      - *T. cratériforme* (Sabouraud)
      - *T. acuminatum* (Sabouraud)
      - *T. violaceum* (Sabouraud)
    - Espèce rares ou étrangères
      - *T. effractum* (Sabouraud)
      - *T. fumatum* (Sabouraud)
      - *T. umbilicatum* (Sabouraud)
      - *T. régulare* (Sabouraud)
      - *T. sulfuréum* (C. Fox)
      - *T. polygonum* (Uriburu)
      - *T. exsiccatum* (Uriburu)
      - *T. circonvolutum* (Sabouraud)
      - *T. pilosum* (Sabouraud)
      - *T. glabrum* (Sabouraud)
  - Néo endothrix
    - Conservant le type parasitaire de la période jeune
      - *T. cérébriforme* (Sabouraud)
      - *T. plicatile* (Sabouraud)
      - *T. astéroïdes* (Sabouraud)
      - *T. persicolor* (Sabouraud)
      - *T. radiolatum* (Sabouraud)
      - *T. lacticolor* (Sabouraud)
    - Microides
      - Type „*gypseum*"
        - *T. granulosum* (Sabouraud)
        - *T. farinulentum* (Sabouraud)
      - Type „*nivéum*"
        - *T. radians* (Sabouraud)
        - *T. denticulatum* (Sabouraud)
- Ectothrix
  - *T. rosaceum* (Sabourand)
  - *T. vinosum* (Sabouraud)
  - *T. équinum* (Matruchot & Dassonville)
  - Mégaspores
    - A. Culture veloutée
      - *T. caninum* (Matruchot & Dassenville)
    - A. culture faviforme
      - *T. ochracéum* (Sabouraud)
      - *T. album* (Sabouraud)
      - *T. discoïdes* (Sabouraud)

Cette méthode a permis de réduire notablement la durée de traitement des enfants teigneux, ce qui a permis à réaliser à l'Assistance Publique de Paris une économie de quelques centaines de mille francs par an.

Sabouraud a complété son oeuvre par son traité sur les Teignes, publié en 1910. Ce volume est d'une présentation parfaite et d'une documentation incomparable et il a pu ainsi divulguer les maladies cryptogamiques et faciliter la tache de ceux qui s'intéressent à la mycologie parasitaire.

L'oeuvre de Sabouraud n'a pas été limitée par la question des Teignes. Il a étudié la flore microbienne de la pelade et de la seborrhée, les alopécies seborrhéïques, le pitryriasis, les alopécies pélliculaires, les pyodermides, l'impétigo, les folliculites, l'exzéma. Pour chacune de ces questions, a travaillé patiemment des années, et son travail a aboutit à autant de gros volume où tout est d'une richesse de documentation exceptionnelle, d'une clarté et d'un ordre parfait.

Dés 1902 paraît le volume consacré à la séborrhée du visage et du cuir chevelu, avec leur complications, l'acné et la calvitie. En 1904, il publie le second volume sur les maladies desquamatives (pitryriasis et alopécies pelliculaires). En 1910 édite le Tome III, consacré aux maladies cryptogamiques, et le quatrième, qui date de 1928, traite de pyodermites et de l'exzema du cuir chevelu. Enfin, en 1929 étudie la pelade et les alopécies en aires et en 1932 il couronne son oeuvre en donnant, à l'usage de praticiens, un volume sur la diagnose et le traitement des affections du cuir chevelu.

Sabouraud, avec Brocq et Darrier furent la gloire de la Dermatologie Française. Brocq représentait le grand esprit clinique avec la recherche de Théories générales. Darrier plus spécifiquement scientifique cherchera appui et explication dans l'anatomie pathologique, tandis que Sabouraud réalisera pour la Dermatologie l'apport bactériologique et l'expérimentation.

Sabouraud n'a pas eu des titres officiels, ni à l'Université de Paris, ni dans les Hôpitaux, car au seul concours qu'il se présenta à la fin de son internat, n'ayant pas été le candidat du jury, a été écarté.

A la suite de cet échec, Roux, sous-Directeur à l'institut Pasteur de Paris, lui a écrit: „quand on est quelqu'un on n'a pas besoin d'être quelque chose". Cette phrase trouve toute sa valeur après la mort d'un savant: Sabouraud est mort, mais son oeuvre survivra et la posterité regardera envers lui avec une infinie gratitude et admiration. Sabouraud est mort, mais pour nous il reste toujours vivant.

Les Travaux

du

Dr. R. Sabouraud

(1891—1937)

Ouvrages

*Les trichophyties humaines. *Paris*, 1894. — Rueff & Cie X—231 p. 8°. Avec un Atlas photographique: La teigne trichophytique et la teigne spéciale de Grüby (62 p. et 174 fig.).

*Maladies du cuir chevelu. I. Les maladies séborrhéiques. Séborrhée. Acné. Calvitie. *Paris* 1902. Masson & Cie. I—347 p. 8°. (1 fig. en noir et en couleurs).

*Maladies du cuir chevelu. II. — Les maladies desquamatives: Pityriasis et alopécies pelliculaires. *Paris*, 1904. Masson & Cie VIII—715 p. 8° (122 fig. en noir et couleurs).

*Manuel elementaire de dermatologie topographique regionale. *Paris*, 1905, Masson & Cie, VI—736 p. 8° (2 pl.).

*Maladies du cuir chevelu. III. — *Maladies cryptogamiques*. Les teignes. *Paris*, 1910, Masson & Cie 855 p. 8°. (433 fig. et 28 pl.).

Hygiene du cuir chevelu dans l'enfance et l'adolescence. *Paris*, 1912, Vuibert, 29 p. 8°.

*A manual of regional topographical dermatology. English translation by O. F. Marshall. *New-York* (1913) Rebman Co. 712 p. 8°.

*A manual of regional topographical dermatology. English translation by C. F. Marshall. Rev. and enlarged edition, XIV, 670 p. 28 p. 8°.

Entretiens dermatologiques a l'ecole lailler (Hôpital Saint-Louis) *Paris*, 1913, C. Doin, III—512 p. 8° (49 fig.).

Entretiens dermatologiques a l'ecole lailler (Hôpital Saint-Louis) série nouvelle I. *Paris*, 1922, Masson et Cie 334 p. 8° (23 fig.).

Entretiens dermatologiques e l'ecole lailler (Hôpital Saint-Louis) Nouvelle série, deuxième volume. *Maladies du cuir chevelu. Paris.* 1924. Masson et Cie 269 p. 8° (14 fig. et 16 pl.).

*Teignes. *Cours d'hygiène professé à la Faculté de médecine. Paris*, 1927, Masson & Cie. 8° (6 figs.).

Maladies du cuir chevelu. IV. *Les maladies suppuratives et exsudatives pyodermites et eczéma. Paris.* 1928, Masson & Cie, 284 p. 8° (149 fig. orig.)

Maladies du cuir chevelu. V. *Les syndromes alopéciques*. Pelade et alopécies en aire. *Paris*, 1929, Masson et Cie, 378 p. 8° (179 fig. origin.).

Maladies du cuir chevelu. VI. *Diagnostic et traitement des affections du cuir chevelu. Paris.* 1932, Masson & Cie, 579 p. 8° (200 fig.).

Memoires et Articles

1891

Un cas de tuberculose humaine congenitale. *Comptes-Rendus. de la Société de Biologie.* 9ème Série, t. III, 1891 p. 674—675.

SUR UN CAS DE TUBERCULOSE HUMAINE CONGENITALE. *Médecine moderne.* II. p. 749—751. 1891.

1892

*CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TRICHOPHYTIE HUMAINE. Etude clinique, microscopique et bactériologique sur la pluralité des trichophytoses de l'homme. *Bulletin Soc. fr. de dermatologie et syphiligraphie,* III, p. 437—463 (Pl. I et II).

DIX SEPT CAS DE CHEVEUX MONILIFORMES (MONILETHRIX) DANS UNE MEME FAMILLE. *Bulletin Soc. fr. de dermatologie et syphiligraphie,* III, 1892, p. 362—364.

RECHERCHES SUR LA PARASITOLOGIE DE L'ELEPHANTIASIS NOSTRAS. *Bulletin Soc. fr. de dermatologie et syphiligraphie,* III 1892, p. 263.

RECHERCHES BACTERIOLOGIQUES SUR UN CAS DE FARCINOSE HUMAINE (et disc.) *Bulletin Soc. fr. de dermatologie et syphiligraphie,* III, 1892, p. 172—177.

QUELQUES FAITS RELATIFS A LA METHODE DE COLORATION DE LUSTGARTEN. *Annales de l'Institut Pasteur,* t. VI. 1892, p. 184—189 (1 fig.).

*CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TRICHOPHYTIE HUMAINE. Etude clinique, mic. et bactériologique sur la pluralité des trichophytons de l'homme. *Annales de dermatologie et syphiligraphie,* 3ème Série, III, 1892, p. 1061—1087 (2 Pl.).

SUR LES CHEVEUX MONILIFORMES (Trichorrexies et monilethrix). *Annales de dermatologie et syphiligraphie,* 3ème Série, III 1892, p. 781—793.

RECHERCHES SUR LA PARASITOLOGIE DE L'ELEPHANTIASIS NOSTRAS. *Annales de dermatologie et syphiligraphie,* 3ème série, III, 1892, p. 629—630.

SUR LA PARASITOLOGIE DE L'ELEPHANTIASIS NOSTRAS. *Annales de dermatologie et syphiligraphie,* 3ème série, III. 1892, p. 592—600.

*DE LA TRICHOPHYTIE DE L'HOMME. *Comptes-Rendus de l'Académie des sciences.* CXV, 1892, p. 1326—1329.

1893

*CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TRICHOPHYTIE HUMAINE (2ème Mémoire) Les trichophytons à grosses spores. *Annales de dermatologie et syphil.* 3ème série IV, 1893, p. 116—149.

ERYTHEME NOUEUX AU COURS D'UNE SEPTICEMIE A STREPTOCOQUES. (En collab. avec Orillard). *Médecine moderne,* 8 Février 1893, p. 122.

*CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TRICHOPHYTIE HUMAINE. (3ème Mémoire) Etude synthétique de la trichophytie à grosses spores. Les trichophytons animaux sur l'homme; trichophyties pilaires de la barbe. *Annales de dermatologie et syphiligraphie.* 3ème série, IV. 1893, p. 814—835 (Pl. IV et V).

*DE LA TRICHOPHYTIE CHEZ L'HOMME. *Gazette des hôpitaux.* LXVI, 1892, p. II.

*NOUVELLES RECHERCHES SUR LA MYCOLOGIE DU TRICHOPHYTON. Des espèces de Trichophyton à grosses spores. *Bulletin Soc. fr. de dermat. et syphil.,* IV, 1893, p. 59—91.

*SUR L'ORIGINE ANIMALE DES TRICHOPHYTIES DE LA BARBE. *Bulletin Soc. fr. de dermatologie et syphiligraphie,* IV. 1893, p. 384—405 (avec Pl. IV et V).

*NOTE SUR L'HYPOTHESE D'UNE EXISTENCE SAPROPHYTE DES TRICHOPHYTONS. — *Bulletin Soc. fr. de dermatologie et syphiligraphie,* IV 1893, p. 331—336.

*NOTE SUR L'HYPOTHESE D'UNE EXISTENCE SAPROPHYTE DES TRICHOPHYTONS. *Annales de dermatologie et syphiligraphie.* 3ème série, IV 1893, p. 561—566.

1894

*Les trichophyties humaines. *Paris (Thèse de)*, 1894, 233 p. 8° (no. 227).

*Sur une mycose innominée de l'homme : la teigne tondante spéciale de Grüby : *Microsporum Audouini*. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VIII, 1894 p. 83—107 (4 fig.).

*Sur l'unité du trichophyton. *Médecine moderne*, V, 1894, p. 497—499.

*Sur la trichophytie (Rapport) *Bulletin Soc. Fr. de dermatol. et Syphil.* V, 1894, p. 350—365 (et disc.), p. 365.

*Note sur trois points de l'histoire micrographique des trichophytons. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. & Syphil.* V, 1894, p. 27—34.

*Note sur trois points de l'histoire micrographique des trichophytons. *Annales de dermatol. et Syphil. 3ème série* V, 1894 — p. 37—43.

*Trichophytie d'origine aviaire. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et Syphil.* V. 1894, p. 262—263.

Syphiloïde infantile due au pityriasis versicolor. (En collab. avec le Professeur Alfred Fournier). *Bulletin Soc. fr. de Dermatol. et Syphil.* V, 1894, p. 251—256 (2 fig.) et disc. p. 256—257.

1895

*De la rareté, en Italie, du microsporum audouini (avec une lettre de Vittorio Mibelli). *Bulletin Soc. fr. de Dermatol. et Syphil.* VI, 1895, p. 200—203.

*Observations sur le present memoire de m. le professeur mibelli (sur la pluralité des Trichophytons). *Annales de dermatol. et Syphil.* 3ème série VI, 1895, p. 757—759.

*Etude des trichophyties a dermite profonde specialement de la folliculite agminée de l'homme, et de son origine animale. *Annales de l'Institut Pasteur*, 7, 1895, p. 497—528 (3 fig. 2 pl.).

*Agminate trichophytic folliculitis. Synonyms : Ringworm of the neck. Kerion Celsi. In : Pict. Atlas Skin Dis et Syph. *St Louis Hospital. London & Philadelphia*, 1895—1897, p. 143—147 (1 pl.).

*Ringworm of the body. Synonyma ; trichophytosis coutanea, herpes circinatus. In : Pict. Atlas Skin Dis. & Syph. St. Louis Hospital *London & Philadelphia*. 1895—1897 p. 143—147 (1 pl.).

*Diagnostic et traitement de la pelade et des teignes de l'enfant. *Paris*, 1895, Rueff & Cie, III—345 p. 8° (22 fig. dont 8 en coul. hors texte).

1896

*La question des teignes (au congrés de londres) : revue critique. *Annales de dermatologie et syphiligraphie*, 3ème série, VII, 1896, p. 1333—1357.

*Trichophytie cutanée ; syn. herpes circiné. Musée de l'Hôpital Saint Louis. *Iconographie des Mal. cutan. et syphil.* 1896, p. 159—162 (1 Pl.).

*Folliculite agminée trichophytique. Syn. kerion Celsi. Musée de l'Hôpital Saint-Louis. *Iconographie des maladies cutanées et syphil.* 1896, p. 127—133 (1 Pl.).

*Ueber trichophytiasis und herpes tonsurans, herfor gerufen durch das microsporon gruby ; 1892—1896 ; abschliessende Untersuchung. *Monatheftes für prakt. Dermatologie XXIII 1896*, p. 576—589.

*Traitement de l'onychomycose trichophytique. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* VII, 1896, p. 2.

Chancre mou de la langue (En collabor. avec Emery) *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* VII, 1896, p. 92—95.

Chancre mou de la langue (En collab. avec Emery) *Annales de dermatol. et syphil.* 3ème série VII, p. 198—201.

Sur les origines de la pelade. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et Syphil.* VII, 1896, p. 400—401.

Etude clinique et experimentale sur les origines de la pelade. (Ier mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 2ème série VII, 1896, p. 253—277 (fig. 1—4).

Etude clinique et experimentale sur le origines de la pelade (2ème Mémoire): Histologie de la pelade. *Annales de dermatol. et Syphil.* 3ème série, VII, 1895 p. 460—484 (fig. 5—9 et 3 pl. en coul.).

Etude clinique et experimentale sur les origines de la pelade (3ème mémoire). *Annales de dermatol. et Syphil.* 3ème série, VII, 1896 p. 679—702 (fig. 10 et 11. Pl. IV et V).

Etude clinique et experimentale sur les origines de la pelade (4ème mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 3ème série VII, 1896, p. 824—839 (Pl. VI).

Etude clinique et experimentale sur les origines de la pelade. Résumé in: *Internt. Congress Dermatol. Off. Transact.* 1896, London, 1898. III p. 793—805.

1897

La seborrhée grasse et la pelade. *Annales de l'Institut Pasteur,* XI, 1897, p. 134—159 (2 Pl.).

La seborrhée grasse et la pelade (Abal.). *Presse Médicale,* 1897, p. 126.

Sur la nature, la cause et le mecanisme de la calvitie vulgaire. *Bulletin Soc. fr. de Dermatol. et Syphil.,* VIII, 1897 p. 106—107.

Note concernant les alopecies et les seborrhées. *Bulletin Soc. fr. de Dermatol. et Syphil.,* VIII, 1897 p. 262—263.

Sur la nature, la cause et le mecanisme de la calvitie vulgaire. *Annales de Dermatol. et Syphil.,* 3ème série, VIII, 1897, p. 257—274 (4 schémas).

1898

L'eau d'alibour. *Archives de médecine des enfants,* I. 1898, p. 32.

Pathogenie et traitement de l'impetigo. *Archives de médecine des enfants,* I. 1898, p. 21—35.

Sur l'ophiasis de celse. (Pelade spéciale de l'enfant). (et disc.) *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et Syphil.* IX, 1898, p. 253—256.

Sur l'ophiase de celse (Pelade spéciale de l'enfant). *Annales de dermatol. et Syphil.,* 3ème série, IX, 1898 p. 545—548.

*Les caratés. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* IX, 1898, p. 311—312.

*Les caratés. *Annales de dermatol. et Syphil.* 3ème série IX, 1898, p. 673—674.

Pathogenie et traitement de l'impetigo. *Archives de médecine des enfants.* I. 1898, p. 21—35.

1899

*Teignes et pelades. *Echo médical du Nord.* III, n° 28, 9 Juillet, p. 325—330.

Essai critique sur l'etiologie de l'eczema. *Annales de dermatol. et Syphil.*, 3ème série, X, 1899, 0p. 305—324.

La defense de la peau contre les microbes. *Annales de dermatol. et Syphil.* 3ème série, X, 1899 p. 729—750. (7 Fig.).

L'acne necrotique (Avec la collaboration de M. Amabilis). *Annales de dermatol. et Syphil.*, 3ème série, X, 1899. p. 841—863 (4 fig. et Pl. VII).

1900

*Dermatophytes. *In*: *Pratique dermatologique. Paris. 1900, Masson & Cie,* 8° t. I, p. 701—797 (fig. 130—165) et p. 819—841 (fig. 174—201).

*Dermatophytes. Les champignons pathogenes. I. Les levures. — II. Les streptothricées. — III. Erythrasma. — IV. Pityriasis versicolor. — V. Piedra. — VI. Les Caratés. — VII. Tokelau. — VIII. Les parasites de Teignes. *Pratique dermatologique.* Paris, 1900, Masson & Cie, 8; t. I, p. 744—762 (4 fig.).

*Dermatophytes. Generalites sur les champignons inferieurs. *Pratique dermatologique. Paris,* 1900, Masson & Cie, 8°. t. I, p. 762—765.

*Dermatophytes. Les techniques d'etude. *Pratique dermatologique. Paris.* 1900, Masson & Cie, 8°. t. I, p. 765—777. (14 fig. sur Pl. XXI).

*Dermatophytes. Les trichophytons. *Pratique dermatologique.* Paris, 1900, Masson & Cie, 8°, t. I, p. 777—797 (15 Fig.).

*Dermatophytes. V. Favus. *Pratique dermatologique. Paris,* 199, Masson & Cie, 8°, t. I, p. 819—834 (18 fig.). (La IV est de Bodin).

*Dermatophytes. Conclusions generales du present article. *Pratique dermatolohique. Paris,* 1900, Masson & Cie, 98, t. I, p. 835—841 (9 fig.).

Etude clinique et bacteriologique de l'empetigo (1er mémoire) *Annales de dermatol. et Syphil.*, 4ème série, I. 1900. p. 62—90, (5 fig.).

Etude clinique et bacteriologique de l'impetigo (2ème mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 4ème série, I, 1900, p. 320—374, (18 fig.).

Etude clinique et bacteriologique de l'impetigo (3ème mémoire). *Annales de dermatologie et syphil.*, 4ème série, I, 1900; p. 427—508 (21 fig.).

Les pelades. *Journal des praticiens.* XIV, 199, p. 625—627.

Les bacteries de la peau. I. Les cocci. *In: Pratique dermatologique. Paris,* 1900, Masson et Cie., 8°; t. I, p. 703—721 (5 fig.).

Les bacteries de la peau. II. Les bacilles. *In: Pratique dermatologique. Paris,* 1900, Masson & Cie, 8°, t. I, p. 721—740 (8 fig.).

Les bacteries de la peau. III. Vibrions et spirilles. *In: Pratique dermatologique. Paris,* 1900, Masson & Cie, 8°, t. I, p. 740—744.

1901

Folliculites. *In: Pratique dermatologique, Paris,* (1901), Masson & Cie, 8°; t. II, p. 651 — p. 709 (Fig. 99—119).

Folliculites. I. — Avant-propos. Les porofolliculites. *In: Pratique dermatologique.* Paris, 1901, Masson & Cie 8°, t. II, 651—653.

Folliculites. II. — Etiologie générale. *In: Pratique dermatologique, Paris*, 1901, Masson & Cie, 8° t. II, p. 654—658.

Folliculites. III. — Pustule périfolliculaire crificielle. Etude clinique, anatomique, bactériologique de la lésion élémentaire. *In: Pratique dermatologique. Paris* (1901) Masson & Cie, 8° t. II, p. 659—671 (7 fig.).

Folliculites. IV. — Formes cliniques. Etude symptomatique. *In: Pratique dermatologique. Paris*, 1901 Masson & Cie, 8°, t. II, p. 671—702 (13 fig.).

Folliculites. Traitement. *In: Pratique dermatologique. Paris*, 1901 Masson & Cie, 8° — t. II, p. 702—709.

Impetigo. *In: Pratique dermatologique. Paris* 1901, Masson & Cie, 8°, t. II, p. 856—914 (fig. 140—159 et 2 Pl. en coul.).

Le streptocoque envisagé comme dermatophyte. *In: Festschrift f. M. Kaposi. Wien & Leipzig*, 1901, p. 785—809.

1902

*Sur l'histologie des teignes. *Annales de dermatol. et Syphil.* 4ème série, III, 1902, p. 1139—1141.

A propos de la contagiosité peladique. *Bulletins et Mémoires Société méd. des Hôpitaux de Paris.* 27 mars 1902, p. 271. (En collaboration avec Jacquet).

Sur la contagiosité de la trichorrexie noueuse. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et Syphil.*, III. — 1902, p. 515—517.

Note sur l'histologie du pityriasis rose de gibert. *Revue part. des Mal. cutanées* (etc.) I — 1902, p. 53—60 5 fig. et 2 pl.

1903

Semeiologie des alopecies. *Revue prat. des mal. cutanées et syphil.* Mai 1903, p. 149.

Alopecies des adultes. *Annales médico-chirurg.* 1903, p. 158—161. (Belgique).

*Les teignes. *Revue prat. des mal. cutanées* II, 1903, p. 308—315.

Croutes et cicatrices. *Revue Prat. des Mal. cutanées* II, 1903, p. 228—234.

La therapeutique des affections du cuir chevelu. *Revue gén. de clin. et thérap.* XVII, 1903, p. 547—549 et *Revue Prat. des Mal. cutanées* II, 1903; p. 261—270.

The histogenesis of scales and crusts. *Journal of Cutaneous Diseases* (etc.). XXI, 1903, p. 61—72 (4 pl.).

Alopecies de l'enfance. *Annales médico-chirurg.* 1903, p. 140—144. (Belgique).

Quelques faits experimentaux concernant la trichoprexie nodosa. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XIV., 1903, p. 345—347.

1904

*Traitement des teignes tondantes par les rayons x a l'ecole lailler (Hôpital St. Louis). *Presse médicale*, 1904, II, N° 104, p. 825—827.

Ce que sont les seboorheides. *Presse Médicale*, 1904, I, p. 393—396.

*Teignes tondantes traitées par la radiotherapie. *Bulletin Soc. fr. de dermatol.* et syphil. XV, 1904 p. 69—70.

Sur le vernix caseosa et la seborrhée foetale de m. jacquet (et disc.). *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et Syphil.* XV, 1904 p. 215—218.

*Les teignes cryptogamiques et les rayons x. (Avec la collaboration technique de H. Noiré). *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XVIII, 1904, p. 7—25 (7 fig.).

*Sur la radiotherapie des teignes. *Annales de dermatol. et syphil.* 4ème série, V. 1904, p. 577—587.

La question des seborrheides. *Presse médicale*, 1904, I. p. 353—355.

La peau humaine, sa flore dite normale et ses processus spontanes de defense. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, II, 1904, p. 233 et p. 281.

*Les teignes cryptogamiques et les rayons x. (En collaboration avec H. Noiré). *Revue prat. des maladies cutanées*, etc. III, 1904, p. 35—47.

*Trichophyties. *In: Pratique dermatologique.* (Besnier, Brocq en Jacquet). *Paris*, 1904, Masson & Cie, 8°; t. IV, p. 467—516. (fig. 103—133) (A pl. en coul.).

*Les trichophyties. *I. Les teignes tondantes trichophytiques. In: Pratique dermatologique*, Paris, 1904, Masson & Cie, 8°, t. IV, p. 476—489 (14 fig.).

*Les trichophyties. *II. Trichophyties de la barbe. In: Pratique dermatologique. Paris*, 1904, Masson & Cie, 8°, t. IV, p. 459—494 (4 fig. 1 Pl. en coul.).

*Trichophyties. III. *Trichophyties cutanées. In: Pratique dermatologique. Paris*, 1904, Masson & Cie 8°, t. IV, p. 494—498 (6 fig. 1 Pl. coul.).

*Trichophyties. IV. *Trichophyties unguéales. Onychomycoses trichophytiques. In: Pratique dermatologique, Paris*, 1904, Masson & Cie, 8°, t. IV, p. 499—500 (2 fig.).

*Trichophyties. V. *Considérations générales concernant les teignes. In: Pratique dermat. Paris*, 1904, Masson & Cie, 8°, t. IV, p. 500—502.

*Trichophyties. VI. *Traitement des trichophyties. In: Pratique dermatologique. Paris*, 1904, Masson & Cie, 8°, t. IV, p. 502—515.

*Teigne tondante a petites spores. *In: Pratique dermatologique. Paris*, 1904, Masson & Cie, 8°, t. IV, p. 469—476 (5 fig.).

1905

*X-ray treatement of tinea tonsurans. *International Clinics.* 15ème sér. II, 1905, p. 41—49.

*La radiotherapie des teignes a l'ecole lailler en 1904 (en coll. avec Pignot et Noiré). *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et Syphil.* XVI, 1905, p. 10.

Pelade. *In: Traité des maladies de l'enfance* (Grancher et Comby), t. IV, Paris, 1905, 2ème éd., Masson et Cie, 8° p. 994—1014.

*Teignes tondantes. *In: Traité des maladies de l'enfance* (Grancher et Comby) t. IV, *Paris*, 1905, (2ème édit.) Masson & Cie, 8°, p. 1015—1045 (2 fig.).

*Teignes faveuses. *In: Traité des maladies de l'enfance.* (Grancher et Comby), t. IV. *Paris*, 1905, (2ème éd.). Masson & Cie, 8°, p. 1046—1061.

*Pityriasis versicolor. *In: Traité des maladies de l'enfance* (Grancher et Comby) t. IV, Paris, 1905, (2ème éd.) Masson et Cie, 8°, p. 1062—1065.

L'eau d'alibour, agent d'antisepsie externe. *Clinique* I, p. 56, et *In: Entretiens dermatol.* Paris, 1913, p. 394.

A propos de la gale et de la frotte. *Clinique* I, 1906, p. 70.

Les cauterisations aux deux crayons dans le traitement des scrofulodermites fongueuses, vegetantes ou ulcereuses. *Clinique* I, 1906, p. 118 et *In: Entretiens dermatol. Paris* 1913, p. 489.

Les fausses pelades a l'ecole. *Clinique I*, 1906, p. 136 et *In: Entretiens dermatol.* Paris, 1913, p. 136.

L'ECZEMA DU NOURRISSON. *Clinique* I, 1906, p. 147.

TRAITEMENT DES PHTIRIASES PAR LE XYLOL. *Clinique I*, 1906, p. 201.

L'ACIDE CHROMIQUE EN DERMATOLOGIE. *Clinique I*, 1906, p. 344.

LES POUDRES DENTIFRICES ET L'ECZEMA ARTIFICIEL DU BORD DES LEVRES. *Clinique, I*, 1906, p. 374.

LE SULFURE DE CARBONE SATURE DE SOUFRE DANS LE TRAITEMENT DE LA SEBORRHÉE FLUENTE. *Clinique*, I, 1906, p. 614.

LES TEINTURES D'IODE EN DERMATOLOGIE. *Clinique I*, 1906, p. 745.

LE PRURIT ANAL. *Clinique I*, 1906, p. 772.

LA PELADE N'EST PLUS CONTAGIEUSE. *Clinique I*, 1906, p. 821 et *In: Entretiens dermatol.*, Paris, 1913, p. 194.

L'ACNE FURONCULEUSE DE LA NUQUE. *Clinique* (*Bruxelles*), XX, 1906, p. 519.

*THE RADIO-THERAPEUTICS OF RINGWORM. *British Journal of Dermatology*, XVIII, 1906, p. 199—214 (4 pl.).

1907

*SUR LE DIAGNOSTIC A L'OEIL NU DE LA TEIGNE TONDANTE. *Clinique*, II, 1907, p. 10.

LUPUS ERYTHEMATEUX FIXE ET IGNIPUNCTURE. *Clinique*, II, 1907, p. 68.

TRAITEMENT DU RHINOPHYME. *Clinique*, II, 1907, p. 104—106.

PROPHYLAXIE DE LA FURONCULOSE A REPETITION. *Clinique* II, 1907, p. 217.

SUR LES ALOPECIES SPONTANÉES DE LA FEMME. *Gazette de Gynécol.* XXII, 1907, p. 353—361. *Clinique*, II, 1907, p. 243—245. *In: Entretiens dermatol. Paris*, 1913, p. 11.

TRAITEMENT DE LA FURONCULOSE BLEPHAROCILIAIRE PAR LA PIERRE DIVINE. *Clinique*, II, 1907, p. 376 et *In: Entretiens dermatol. Paris*, 1913, p. 272.

LES DARTES VOLANTES DU VISAGE. *Clinique*, II, 1907, p. 440.

UN ELEMENT DE PRONOSTIC DANS LA PELADE: CHEVEUX QUI TOMBENT ET CHEVEUX QUI REPOUSSENT. *Clinique*, II, 1907, p. 581. *In: Entretiens dermatol. Paris* 1913, p. 151.

LES EMPLOIS DE BAUME DU COMMANDEUR EN DERMATOLOGIE. *Clinique*, II, 1907, p. 743, et *In: Entretiens dermatol.*, Paris 1913, p. 408.

*NOUVELLES RECHERCHES SUR LES MICROSPORUMS. (I° mémoire) Microsporums anciens et M. nouveaux. *Annales de dermatol. et syphil.*, 4ème série VIII, 1907, (3 fig. et 2 Pl.).

*NOUVELLES RECHERCHES SUR LES MICROSPORUMS. (2° mémoire). Le processus d'invasion de la peau et du cheveu dans la tondante microsporique du *Microsporum lanosum*. *Annales de dermatol. et syphil.* 4° série, VIII, 1907, p. 225—245 (12 fig.).

*NOUVELLES RECHERCHES SUR LES MICROSPORUMS. (3° Mémoire). Le mycélium intrapilaire des microsporums. *Annales de dermatol. et syphil.* 4ème série VIII, 1907, p. 326—226 (8 fig.).

*NOUVELLES RECHERCHES SUR LES MICROSPORUMS. (4ème mémoire). Morphologie générale des microsporums dans le cheveu. *Annales de dermatol. et syphil.* 4ème série VIII, 1907 p. 369—386 (25 fig.).

TRAITEMENT DE LA PEDICULOSE COMPLIQUEE D'IMPETIGO PEDICULAIRE. *Clinique*, 1907, p. 710.

*SUR L'ECZEMA MARGINATUM DE HEBRA; TRICHOPHYTIE INGUINALE ET SON PARASITE. (*Epidermophyton inguinale, Sabouraud*). *Archives de méd. expérim. et d'anat. pathol.* XIX, 1907 p. 565—586 et p. 737—766 (2 pl.).

*ROENTGEN BEHANDELING VEL TRICHOPHYTI. *Hopitalstidende*. 25 Décembre 1907, p. 1400.

1908

*Milieux de cultures des champignons dermatophytes. (*Technique de fabrication des géloses sucrées dites: milieux d'épreuves*). *Annales de dermatol. et syphil.* 4ème série IX, 1908, p. 99—101.

*Identification du microsporum lanosum (Sabouraud, 1907) au microsporum caninum (Bodin et Almy, 1897) *Annales de Dermatol. et Syphil.* 4ème série IX 1908, p. 153—156.

*Frequence du microsporum caninum ou lanosum chez le chien et chez l'homme (en coll. avec A. Suis et F. Suffran). *Annales de dermatol. et syphil.* 4ème série IX, 1908. p. 321—348 (9 fig.).

*Les trichophytons faviformes. *Annales de dermatol. et syphil.* 4ème série IX, 1908, p. 609—635 (21 fig.).

*Sur le pleomorphisme des cultures de dermatophytes et le moyen de l'empecher. *Archives de parasitol.*, XII, 1908, p. 33—39.

*Le trichophyton a culture agminée et le trichophyton a culture crateriforme. (*Tr. acuminatum, tr. crateriforme* Sabouraud). *Archives de parasitol.* XII, 1908, p. 40—98.

Le cataplasme de fecule en dermatologie. *Clinique*, II, 1908, p. 59.

De la trichorhexie noueuse. *Clinique*, II, 1908, p. 117.

Pronostic de l'ulceration linguale tuberculeuse. *Clinique*, III, 1908, 0p. 5.

Le probleme etiologique de la pelade et l'utilité du traitement local des plaques peladiques. *Clinique*, III, 14 Août, 1908, p. 51.

Sur la pustule epidermique. *Clinique*, III, 1908, p. 183.

Sur l'eruption artificielle due au contact de certaines especes de primeveres. *Clinique*, III, 1908, p. 246.

Dermite pustuleuse du cuir chevelu chez l'enfant. *Clinique*, III, 1908, p. 262—264.

La querelle du terrain et du microbe en dermatologie. a propos de l'etiologie du sycosis de la levre superieure. *Clinique*, III, 1908, p. 401—405.

L'abces furonculeux et le furoncle. *Clinique*, III, 1908, p. 548—550.

De l'erythrasma. *Clinique*, III, 1908, p. 691.

Sur l'eczema marginatum de hebra. *Clinique*, III, 1980, p. 737.

*The dermatomycoses common to man and animals. *British Medical Journal*, 1908, II. p. 1089—1094.

1909

*Sur les soi-disant godets produits par les trichophytons et des soi-disant trichophytons producteurs de godets. *Annales de Dermatol. et Syphil.* 4ème série, X, 1909, p. 289—293.

*De la radiotherapie des teignes; des critiques qu'on lui a faites; des accidents qu'elle peut causer et des moyens de les prevenir. *Annales de dermatol. et syphil.*, 4ème série, X, 1909, p. 552—461.

*A propos du travail de m. dalla favera sur l'etat actuel des trichophyties de la province de parme. *Annales de dermatol.* et syphil. 4ème série, X, 1909, p. 508—517.

Ernest Besbier (Nécrologie). *Bulletin Médical*, samedi 22 mai 1909, p. 484—485.

De l'intertrigo inguinal et de son traitement. *Clinique*, IV, 1909, p. 54—56.

*Reponse a la note de mm. Matruchot et Dassonville (à propos d'une épidémie de trichophytie équine récemment décrite par M. Pécus). *Revue Génér. de médecine vétér.* Juillet 1909, p. 80 —81.

*Les favus atypiques. *Clinique* IV, 1909, p. 296—299. La „crete blanche" favus de la poule et son parasite (en collab. avec Suis et Suffran). *Revue vétér. de Toulouse*, Oct. 1909, p. 601—613 et Nov. 1909 p. 672—688 (15 fig.).

Traitement de la pediculose compliquée l'impetigo pediculaire. *Clinique* IV, 5 Nov. 1909, p. 710.

Trichomanie et trichophobie. *Clinique*, IV, 1909, p. 760.

*Le trichophyton de la poule (trichophyton rosaceum) et la maladie humaine qu'il determine. *Archives de méd. expér. et d'anat. pathol.* XXI, 1909. p. 274—298.

1910

*Sur l'existence frequente d'un soi-disant eczema des doigts et des orteils, du a l'*Epidermophyton inguinale*. *Annales de dermatol. et syphil.* 5° série, I, 1910, p. 289 —296. (3 fig.).

Nouvelles recherches sur l'etiologie de la pelade. *Annales de dermatol. et syphil.* 5° série, I, 1910, p. 545—553.

Sur quelques points de l'anatomie pathologique du lichen plan de Wilson. *Annales de dermatol. et syphil.* 5° série, I, 1910, p. 491—505. (25 fig.).

Quelques mots sur l'etiologie de la calvitie masculine. *Clinique*, V, 1910, p. 164—166.

Microbisme spontané de la peau humaine, ses 4 hotes et parasites les plus frequents. *Clinique*, V, 1910, p. 290—293.

Le pityriasis simplex capitis et son traitement. *Clinique*, V, 1910, p. 312—315.

Analyse clinique et microbienne de la seborrhée vraie micro-bacillaire. *Clinique*, V, 1910, p. 355—359.

La desinfection cutanée est-elle possible? *Clinique*, V, 1910, p. 385—387.

Hypotheses actuelles concernant l'etiologie generale des etats seborrheiques. *Clinique*, V, 1910, p. 551—553.

Nouveau procédé de filtration par centrifugation (en collaboration avec A. Vernes). *Comptes rendus. Société de biologie*, t. LXIX, 1910, p. 620—621.

*Albums des photographies originales des champignons, des teignes, etc. formant 5 volumes in-4° (*Paris* 1910) *Au Musée de l'Hôpital Saint-Louis*, don de M. le Docteur Sabouraud.

1911

A propos de la mort du docteur guinard. *Clinique*, VI, 1911, p. 416.

Chirurgie dermatologique des kystes sebaces du cuir chevelu. *Clinique*, VI. 1911, p. 465.

Trichoclasie idiopathique. *Clinique*, VI, 1911, p. 682—684.

Sur les prejuges concernant les fards, les depilatoires et les teintures. *Clinique*, VI, 1911, 694—699.

L'acide carbonique meigeux en dermatologie. *Clinique*, VI, 1911, p. 719—721 (1 fig.) p. 491.

*L'eczema des espaces interdigitaux des pieds est le plus souvent une teigne. *Clinique*, VI, 1911, p. 724.

Tratement de l'ephidrose plantaire par l'acide chromique et de l'ephidrose palmaire par les rayons x. *Clinique* VI, 1911, p. 790.

L'acide carbonique neigeux en dermatologie. *Clinique* VI, 1911, p. 817—819.

Nouvelles recherches sur l'etiologie de la pelade. La pelade hereditaire et familiale. *Annales de dermatol. et Syphil.* 5ème série, II, 1911, p. 65—71.

De la reaction de Wassermann appliquee aux peladiques (en collab. avec A. Vernes) *Annales de dermatol. et syphil.* 5ème série, II, 1911, p. 257—285.

Frequence de la pelade aux differents ages. *Annales de dermatol. et syphil.* 5ème série, II, 1911, p. 349—355.

Sur l'etiologie de l'alopecie en aires. *In:* Nel XXV anno d'insegn. univ. d. Prof. D. Bardazzo, Livorno, 1911, p. 441—443.

1912

L'huile de cedre comme succedane de l'huile de cade. *Clinique*, VII, 1912, p. 15.

*Diagnostic clinique differentiel de l'impetigo et du favus du cuir chevelu. *Pseudopelade de Brocq. Son diagnostic différentiel avec l'alopécie cicatricielle du favus et l'alopécie syphilitique. De l'évolution de la pelade. Clinique*, VII, 1912, p. 21—23.

De l'acetate de thallium et de son emploi dans le traitement de l'hypertrichose chez la femme. *Clinique*, VII, 1912, p. 102—104.

De l'evolution de la pelade. *Clinique*, VII, 1912, p. 22 et *In: Entretiens dermatol.* Paris, 1913, p. 135.

De l'eczema du sein chez la femme. *Clinique*, VII, 1912, p. 155—156.

Methode de traitement des affections cutanées rebelles par plusieurs medications concurrentes. *Clinique*, VII, 1912, p. 195—196.

De l'acne chronique de la nuque. *Clinique*, VII, 1912, p. 300—303.

Des alopecies diffuses de la moustache. *Clinique*, VII, 1912, p. 324—325.

Du traitement des naevi par le galvano-cautere. *Clinique*, VII, 1912, p. 351—352.

Traitement du psoriasis par les piqures d'enesol. *Clinique*, VII, 1912, p. 361—362.

Le prurigo-asthme. *Clinique*, VII, 1912, p. 378—380.

De la streptococcie cutanee. *Clinique*, VII, 1912, p. 404—408.

Syphilis impetigineuses de la face chez l'homme adulte. *Clinique*, VII, 1912, p. 427.

*Le kerion de celse. *Clinique*, VII, 1912, p. 440—441 (Fig.).

Prurigo et lichenisation, eczema et eczematisation. *Clinique*, VII, 1912, p. 457—459.

La leucoplasie buccale et son traitement. *Clinique*, VII, 1912, p. 646—648.

A propos de la leucoplasie buccale. *Clinique* VII, p. 719.

Encore a propos de la leucoplasie buccale. *Clinique* VII, p. 734.

Quelques remarques cliniques concernant l'etiologie de la pelade. *Clinique*, VII, 1912, p. 737—739.

Pelade. *In: Traité de thérapeutique pratique.* (Albert Robin), t. v. *Paris*, 1912, Vigot frères, 8°, p. 730—742.

Hygiene du cuir chevelu dans l'enfance et d'adolescence. (*L'éducation*, Sept. et déc. 1911). *In: Entretiens dermatologiques série Nouvelle I, Paris* 1922. Masson & Cie, p. 17—42 (3 fig.).

LES STREPTOCOCCIES EPIDERMIQUES. *Paris médical*, IX, 1912—1913, p. 313—319 (3 fig.).

SUR L'ECZEMA MARGINATUM DE HEBRA ET SA TRÈS FREQUENTE LOCALISATION AUX PIEDS. *Archiv für Dermatologie u. Syphilis.* CXIII, 1912, Originale, p. 923—934 (4 Pl.).

*TRICHOPHYTON PLICATILE, CALLED „NEOCRATERIFORME" (en coll. avec Sequiera). *British Journal of Dermatology*, XXIV, 1912, p. 76—78.

1913

LE DIAGNOSTIC DE LA GALE HORS DE L'HOPITAL. *Clinique*, VIII, 1913, p. 6—8, et *In: Entretiens dermatol.* n. série, I, *Paris*, 1922, p. 139—145.

DES SUPPOSITOIRES MERCURIELS. *Clinique*, VIII, 1913, p. 197 et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I. Paris 1922, p. 266—270.

LES POUDRES SOUFFRÉES DANS LE TRAITEMENT DES ETATS SEBORRHEIQUES. *Clinique*, VIII, 1913, p. 333, et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I. *Paris*, 1922, p. 83—87.

SUR LE PROBLEME ETIOLOGIQUE DE LA PELADE ET L'UTILITÉ DU TRAITEMENT LOCAL DES PLAQUES PELADIQUES. *In: Entretiens dermatol.* Paris, 1913, p. 121.

L'ALCOOL AU $^1/_{100}$ LES TEINTURES D'IODE DERMATOLOGIQUES. *In: Entretiens dermatol. Paris*, 1913, p. 403.

ENTRETIENS DERMATOLOGIQUES A L'ECOLE LAILLER (Hôpital St. Louis) *Paris*, 1913, O. Doin, IV, p. 8° (49 fig.).

NOUVELLES RECHERCHES SUR L'ETIOLOGIE DE LA PELADE. PELADE ET MENOPAUSE. *Annales de dermatol. et syphil.* 5° série, IV, 1913, p. 88—97 (II schémas), et *In: Entretiens dermatol.* n. série II, Paris, 1924, p. 157—183.

PELADE ET GOITRE EXOPHTALMIQUE. *Annales de dermatol. et syphil.* 5° série IV, 1913, p. 140—148. Paris 1924, p. 184—194 (fig.).

RECHERCHES SUR LA VACCINOTHERAPIE DE WRIGHT EN CE QUI CONCERNE LES STAPHYLOCOQUES ET LE MICROBACILLE SEBORREIQUE. *Annales de dermatol. et syphil.* 5° série, IV, 1913, p. 257—269. (1 fig.). (en collab. avec H. Noiré).

MILIEU RENDANT FACILE LA CULTURE DU CONOCOQUE (En collab. avec H. Noiré). *Annales de dermatol. et syphil.* 5° série IV, 1913, p. 438—439.

LOUIS WICKHAM. *Clinique*, VIII, 1913, p. 675.

CHIRURGIE DERMATOLOGIQUE DES KYSTES SEBACES DU CUIR CHEVELU. *Annales de la Policlinique de Paris*, XXIV, 1913, p. 65—69.

LA PELADE. *Journal de méd. et chir. prat.* 10 Juin 1913, p. 415—418.

LE PITYRIASIS SIMPLEX CAPITIS ET SON TRAITEMENT. *Entretiens dermatol.* 1913, p. 48.

DE LA TRICHORREXIE NOUEUSE. *Entretiens dermatologiques* 1913; p. 174

LES STREPTOCOCCIES EPIDERMIQUES. *Paris médical*, IX, 1913; p. 313—319 (fig.).

LES INFECTIONS SRTEPTOCOCCIQUES DE L'EPIDERME ET LEUR TRAITEMENT. *Tunisie médicale*, mars 1913, p. 80.

SUR L'ALOPECIA AREATA ET SUR LES MALADIES AYANT UNE CONNEXION AVEC ELLE. RAPPORT. *In: XVIIth Internat. Congress of Medicine, London*, 1913—*Section XIII, Dermatology a. siphilography* p. 21—36.

SUR L'ALOPECIA AREATA ET SUR LES MALADIES AYANT DES CONNEXIONS AVEC ELLE. *Transact. Internat. Congress of Medicine, 1913. London*, 1914, Sect. XIII, Dermat. and Syphilis.

TENNESON HENRI, NEKROLOG (par Sabouraud). *Dermatol. Wochenschrift.* LVII, 1913, p. 1473—1475.

Quelques articles parus dans ENTRETIENS DERMATOLOGIQUES *1913:*

1 — Quelques mots sur l'étiologie de la calvitie masculine. (I).
2 — Rapport de la calvitie masculine avec les functions sexuelles.
24 — Microbisme spontané de la peau humaine.
40 — La désinfection cutanée est-elle possible?
48 — Le Pityriasis simplex capitis et son traitement.
63 — Analyse clinique dut microbienne de la séborrhée.
76 — Hypothèses actuelles concernant l'étiologie générale des états séborrhéiques.
87 — Traitement du Rhinophyma.
92 — Acné congestive pustuleuse.
118 — Fauses pelades à l'école.
121 — Problème étiologique de la pelade.
138 — De l'acide phosphorique officinal dans le traitement interne des meladiques.
142 — Considérations à propos des maladies du cuir chevelu.
151 — Un élément de pronostic dans la pelade.
155 — Trichoclasie idiopathique.
161 — Trichotillomanie et tinéophobie.
170 — Pseudo pelade.
177 — De la trichorrexie noueuse.
178 — A propos du traitement des alopécies infectieuses.
194 — La pelade n'est plus contagieuse.
198 — Diagnostic à l'oeil nu.
208 — Favus atypiques.
221 — De l'érythrasma.
227 — Sur l'eczéma marginatum de Hebra.
234 — De l'intertrigo inguinal et de son traitement.
241 — „L'Eczéma" des espaces interdigitaux des pieds est le plus souvent une „teigne".
248 — Pustule épidermique.
261 — L'abcès furonculeux et le furoncle.
263 — Dermites pustuleuses.
272 — Traitement de la furonculose.
276 — La querelle du terrain et du microbe.
315 — Traitement de la pédiculose compliquée d'impétigo.
321 — Diagnostic de syphilides impétigineuses.
324 — Prurigo et lichenisation.
343 — Prurit anal.
348 — Prurits idiopathiques.
350 — L'eczéma du nourrisson.
367 — Préjugés en dermatose.
376 — Poudres dentifrices et eczéma artificiel du bord des lèvres.
380 — A propos de la gale et de la frotte.
382 — Eruption artificielle due au contact de certaines espèces de primevères.
385 — Les dartres volantes du visage.
393 — Sous-carbonate de fer.
397 — Quelques emplois du liniment oleo-calcaire.
401 — Comment on doit faire, avec de l'huile fraîche la toilette de la peau eczématique.
403 — Teintures d'iode dermatologiques.

408 — A propos des emplois du baume du commandeur.
412 — Acide chromique en dermatologie.
415 — Cataplasme de fécule.
419 — Traitement des phtiriases par le xylol.
421 — Sulfure de carbone saturé de souffre dans le traitement de la séborrhée fluente.
426 — L'huile de cèdre.
444 — Traitement de l'éphidrose plantaire.
469 — De l'ignipuncture.
475 — Lupus erythémateux.
478 — Traitement des naevi par le galvano-cautère.
483 — Chirurgie dermatologique des kystes sébacés du cuir chevelu.
489 — Cautérisation aux deux crayons.
491 — L'acide carbonique neigeux en dermatologie.
500 — De l'épilation à la pince.

1914

CORRELATION ENTRE L'EVOLUTION GENITALE ET LA PATHOLOGIE DU SYSTEME PILEUX DANS L'ESPECE HUMAINE. *Archives mens. d'obstétrique et de gynécologie.* 1914. p. 1—14.

A PROPOS D'UNE ULCERATION DE LA VERGE DE DIAGNOSTIC AMBIGU. *Clinique,* IX, 1914, p. 470.

PELADE ET PSORIASIS; PELADE ET TUBERCULOSE. *Clinique,* IX, 1914, p. 7 et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, II, Paris, 1924, p. 152—156.

THERAPEUTIQUE DERMATOLOGIQUE; LES BAINS CADIQUES CHRYSOPHANIQUES DANS LE TRAITEMENT DU PSORIASIS. *Clinique,* IX, 1914, p. 133—135 et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I, *Paris,* 1922, p. 211—215.

DE LA BRIEVETÉ POSSIBLE DE L'INCUBATION DU SYPHILOME PRIMAIRE INOCULÉ SUR UNE PLAIE VIVE .*Clinique,* IX, 1914, p. 168—170, et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I, *Paris,* 1922, p. 271—275.

UN PEU D'EXEGESE A PROPOS DE LA PELADE, *Clinique,* IX, 1914, p. 277—283, et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, II, *Paris,* 1924, p. 130—148.

A PROPOS DES DERMATITES ROUGES EXFOLIANTES. *Clinique,* IX, 1914, p. 374—377 et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I. *Paris,* 1922, p. 201—210.

1915

1916

DES ECZEMAS ARTIFICIELS DURABLES CAUSÉS AUTOUR DES PLAIES DE GUERRE PAR L'ABUS DES ANTISEPTIQUES. *Presse médicale,* XXIV, 1916, p. 65 et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I, *Paris,* 1922, p. 245—248.

1917

SUR L'ORIGINE TUBERCULEUSE DU PSORIASIS. *Presse médicale,* XXV, 1917, p. 9—12.

LA CURE DE LA SUPPRESSION DU PAIN EN DERMATOLOGIE. *Presse médicale,* N° 10, 15 Février 1917, p. 91—92 et *In: Entretiens dermatol.* n. série, I, *Paris,* 1922, p. 196—200.

La syphilis hereditaire qu'on ignore. *Presse médicale*, XXV, 1917, p. 273—275, et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I. *Paris*, 1922, p. 302—311. (7 fig.).

Comment diagnostiquer la gale quand on n'est pas dermatologistes. *Presse Médicale*, XXV, 1917, p. 364, et *In: Entretiens dermatol.*, n. Série, I, Paris, 1922, p. 146—151.

Valeur pronostique et symptomatique des ongles marbrés. *Presse médicale*, XXV, 1917, p. 566, et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I, *Paris*, 1922, 191—195.

Sur un signe dentaire de l'heredo-syphilis. *Revue trimestr. suisse d'odontologie*, XXVII, 1917, p. 113—119.

Sur un signe dentaire de l'heredo-syphilis. *Presse médicale*, XXV, 1917, p. 169, et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, II, *Paris*, 1924, p. 206—211 (2 pl.).

Pelades et teratologie dentaire. *Presse Médicale*, XXV, 1917, p. 484—486, et *In: Entretiens dermatol.*, n. Série, II, *Paris*, 1924, p. 212—220 (2 Pl.).

Des faits concernant la pelade chez les heredo-syphiliques. *Presse médicale*, XXV, 1917, p. 650 et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, II, Paris, 1924, p. 221—227.

1918

Prophylaxie des maladies veneriennes aux armées. *Presse médicale*, XXVI, 1918, p. 111—113, et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I, *Paris. 1*922, p. 260—266.

*Diagnostic et traitement des intertrigos mycosiques. *Presse médicale*, XXVI, 191, N° 30, p. 276, et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I, Paris 1922, p. 173—177.

Marbled nails: the pronostic symptomatic significance. *Médical Press.* N. ser. CVI, 1918, p. 100.

How to diagnostic itch when not a dermatologist. *Medical Press*, N° Sér. CVI, 191, p. 114—116.

1919

Pratique de la vaccination antifuronculeuse. *Journal Médical français*, VIII, 1919, p. 108 et *In: Entretiens dermatolog.* n. Série, I, *Paris*, 1922, p. 249—252.

Les alopecies post-febriles, l'alopecie qui suit la grippe. *Paris Médical.* XXXI, 1919, p. 437—442, et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, I, *Paris*, 1922, p. 43—55.

The contagiousness of favus in man. *Lancet*, 1919, II, p. 581.

1920

A propos de l'heredo syphilis et de quelques signes mineurs de l'heredité specifique. *Bulletin médical* XXXIV, 1920, p. 1083—1085 et *In: Entretiens dermatol.* n. Sér. I, *Paris*, 1922, p. 312—320.

Les mefaits des alcalis dans le traitement des chutes de cheveux. *Bulletin médical*, XXXIV, 1920, p. 1165—1167, et *In: Entretiens dermatol.* n. Sér. I, *Paris*, 1922, p. 76—82.

Sur l'etiologie de la pelade. *Annales de dermatol. et Syphil.* 6ème série, I, 1920, p. 177—192 et *In: Entretiens dermatol.* b n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 245—260.

Quelques mots sur les traitements internes du psoriasis. *Presse médicale.* XXVIII, 1920, p. 53.

A FEW WORDS ON THE INTERNAL TREATEMENT OF PSORIASIS. *Medical Press*, n. Série, CX, 1920, p. 162—164.

TRIBOULET (HENRY) (1864—1920) *Presse Médicale*, XXVIII, annexe, 1920, p. 381.

QUELQUES MERITES COMPARÉS DE L'ARSENO-BENZOL ET DU MERCURE. *Presse médicale*. N° 54, 4 Août 1920, p. 533—534 et *In: Entretiens dermatol.* n. Sér. I; *Paris*, 1922, p. 287—294.

URGENCE DU DIAGNOSTIC PRECOCE DU CHANCRE INDURE. *Presse médicale*, XXVIII, 1920, p. 221—223 et *In: Entretiens dermatol.* n. Sér. I, *Paris*, 1922, p. 280—286.

SUR LE TRAITEMENT DE LA PELADE. *Presse médicale*, XXVIII, 1920, p. 874—876 et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, II, *Paris*, 1924, p. 260—269.

1921

*A PROPOS DU TRAITEMENT DES TRICHOPHYTIES SUPPURÉES PAR LA LIQUEUR DE GRAM ET INJECTIONS INTRAVEINEUSES. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXVIII, 1921 p. 333—335.

*TRICHOCLASIES, TRICHORREXIES ET TRICHOPHYTOSES. *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème série, II, 1021, p. 445—453, et *In: Entretiens dermatol.* n. série, I, *Paris*, 1922, p. 56—65 (2 fig.).

LE TRAITEMENT DE LA SEBORRHÉE SPECIALEMENT PAR LE SULFURE DE CARBONE SOUFRÉ. *Presse médicale*, XXIX, 1921 — p. 381—383 et *In: Entretiens dermatol.* n. série, I, *Paris*, 1922, p. 68—101.

SEBORRHÉE CONCRETE DU VISAGE, TACHES BRUNES DES VIEILLARDS VERRUES PLANES SENILES ET LEUR PLUS SIMPLE TRAITEMENT. *Médecine*, nov. 1921, p. 136—137 et *In: Entretiens dermatol.* n. Série I, *Paris*, 1922 p. 178—181.

SUR LES RAPPORTS DE LA PELADE ET DE LA SYPHILIS SURTOUT HEREDITAIRE. *Presse médicale*, XXIX, 1921, p. 581—585 et *In: Entretiens dermatol.* n. Série, II, *Paris*, 1924, p. 185—205 et 228—236 (1 pl.).

SOME OF THE MINOR SIGNS OF HEREDO-SYPHILIS. *Médical Press*, n. sér. CXI, 1921, p. 190—192.

HEREDITARY SYPHILIS AND DENTITION. *Medical Perss*, n. sér. CXI, 1921, p. 192.

THE IMPORTANCE OF THE IMMEDIATE DIAGNOSTIC OF HARD CHANCRE. *Medical Press*, n. sér. CXI, 1921, p. 436—438.

THE HARMFULNESS OF ALKALIES IN THE TREATMENT OF PALLING HAIR. *Medical Press*, n. sér. CXI, 1921, p. 471—473.

*CERTAIN UNCLASSIFIED EPIDERMOPHYTES OF THE BODY AND OF THE HAND. *Urologie a. Cutaneous Review.* XXV, 1921, p. 443—445.

1922

SUR LE CHEVEU PELADIQUE. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* Janvier 1922, p. 2 et *In: Entretiens dermatol.* n. sér. II, Paris, 1924, p. 64—74 (2 pl.).

DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DE LA PELADE. *Clinique*, XVII, 1922, p. 115—118. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 32—39 (1 pl.).

DIAGNOSTIC CLINIQUE DIFFERENTIEL DES MALADIES A EVOLUTION CICATRICIELLE ET DES CICATRICES DU CUIR CHEVELU. *Médecine*, IV, 1922, — 23, p. 138—144. *In: Entretiens dermatol.* n. Sér. II, *Paris*, 1924, p. 40—47 (1 Pl.).

PRATIQUE THERAPEUTIQUE DES DERMATOSES BANALES. *Journal de méd. et de chir. Prat.* XCIII, 1922, p. 145—152, et *In: Entretiens dermatol.*, n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 93—100.

COMMENT ON ABIME SES CHEVEUX. *Bulletin médical*, XXXVI, 1922, p. 70—73. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 101—108 (1 pl.).

LES DIAGNOSTICS INCOMPLETS DANS LES AFFECTIONS DU CUIR CHEVELU. *Presse Médicale* XXX, 1922, p. 14 et *In: Entretiens dermatol.* n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 89—93.

*DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DE LA PELADE ET DES TEIGNES TONDANTES. *Presse médicale*, XXX, 1922, p. 140—148 et *In: Entretiens dermatol.* n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 71—80 (1 Pl.).

DE LA CALVITIE PRECOCE. *Presse médicale*, XXX, 1922, n° 43, p. 465—467 et *In: Entretiens dermatol.* n. série, II, *Paris*, 1924, p. 10—22 (1 pl.).

LE SOUFRE DANS LA THERAPEUTIQUE DERMATOLOGIQUE EXTERNE. *Presse médicale*, XXX, 1922, p. 1094—1096.

DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DES ALOPECIES DIFFUSES (*Conférences a l'Hôpital de Strasbourg*, Janvier 1922). *Médecin d'Alsace et de Lorraine*, 1922

CORRELATION ENTRE L'EVOLUTION GENITALE ET LA PATHOLOGIE DU SYSTEME PILEUX DANS L'ESPECE HUMAINE. *In: Entretiens dermatol. n. série*, I. *Paris*, 1922; p. 3—16.

TRAITEMENT DE LA PEDICULOSE DU CUIR CHEVELU. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. I, *Paris*, 1922, p. 66—69.

*DE LA CONTAGIOSITÉ DU FAVUS CHEZ L'HOMME. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. I, *Paris*, 1922, p. 70—75.

LA QUESTION DES SEBORRHEIDES. *In: Entretiens dermatol.* n. série, I, Paris, 1922, p. 102—124.

LES STREPTOCOCCIES EPIDERMIQUES. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. I, *Paris*, 1922, p. 125—138 (4 fig.).

SUR L'ECZEMA MARGINATUM DE HEBRA ET SA TRES FREQUENTE LOCALISATION AUX PIEDS. *In: Entretiens dermatol.* n. série, I, *Paris* 1922, p. 152—165 (8 Fig.).

*ERUPTION TRICHOPHYTIQUE DUE AU TRICHOPHYTON RUBRUM CASTELLANI. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. I, *Paris*, 1922, p. 168—172.

TRAITEMENT LOCAL DE LA LEUCOPLASIE BUCCALE IDIOPATHIQUE. *In: Entretiens dermatol.* n. série, I, *Paris*, 1922, p. 182—190.

SUR L'ORIGINE TUBERCULEUSE DU PSORIASIS. *In: Entretiens dermatol.*, n. série, I. *Paris*, 1922, p. 216—231.

QUELQUES NOTES SUR LES TRAITEMENTS INTERNES DU PSORIASIS. *In: Entretiens dermatol.* n. série, I, *Paris*, 1922, p. 232—239.

CONDITION DE TOUTE HYPOTHESE CONCERNANT L'ETIOLOGIE DU PSORIASIS. *In: Entretiens dermatol.* n. série, I. *Paris*, 1922, p. 240—244.

TINTURAS PARA EL CABELLO, PROHIBICION DE SU EXPENDIO POR SER NOCIVAS. *Semana medica*, XXIX, 1922, p. 148—150.

1923

*TRICHOPHYTIE DU CUIR CHEVELU (*Trichophyton violaceum*) CHEZ UNE ISRAELITE RUSSE DE 55 ANS (en coll. avec Hudelo et Richon). *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXX, 1923, p. 76.

ANGIO-KERATOME DE MIBELLI. TENDANCE A LA GENERALISATION (en coll. avec Peignot). *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXX, 1923, p. 355—356.

*LA QUESTION DES INTERTRIGO-MYCOSES. (A propos du rapport de M. PETGES au Congrès récent des dermatologistes de langue française). *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème série IV, 1923, p. 425—432.

NEGRAS GERAES DO TRATAMIENTO DA PELLADA. *Medicina hodierna* (Buenos-Aires), n° 4, février 1923 (5 fig.).

DIAGNOSTIC DES ALOPECIES DIFFUSES. *Presse médicale*, XXXI, n° 2, 6 janvier, 1925, p. 14. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 48—54.

LES ECZEMAS DU CUIR CHEVELU CAPABLES DE DETERMINER DES ALOPECIES. *Presse médicale*, XXXI, 14 Avril 1923, p. 341 et *In: Entretiens dermatol.* n. série, II, *Paris*, 1924, p. 23—51.

*THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF RINGWORM AND ALOPECIA AREATA, *Medical Press*, n. ser. CXV, 1923, p. 96.

THE RELATIONSHIP OF ALOPECIA AREATA TO SYPHILIS. *Médical Press*, n. sér. CXVI, 1923). 65—68.

DES SOINS D'HYGIENE A DONNER AUX VIEUX VISAGES. *Revue Médicale française*, N° 3, Juin-Juillet 1923, p. 139—141.

SUR L'EMPLOI DU CALVANO-CAUTERE EN DERMATOLOGIE. *Médecine*, V. 1923—24 p. 111—113.

1924

LE DOCTEUR SABOURAUD, Sculpteur, par Elie Faure. *Æsculape*, N° 5 — Mai 1924, p. 108—111 (5 fig.).

UN CAS DE PELADE CONJUGALE. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXXI, 1924, p. 87.

*DEUX CAS DE KERION DE CELSE. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXXI, 1924, p. 193.

*DEUX CAS DE KERION DE CELSE. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et Syphil.* XXXI, 1924, p. 277.

DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DES ALOPECIES DIFFUSES (Leçon donnée à la Faculté de Strasbourg en Janvier 1922). *In: Entretiens dermatologiques*, sér. nouv. II. *Paris*, 1924, Masson et Co. 8°, p. 1—10.

LES ECZEMAS DU CUIR CHEVELU ET LES ALOPECIES CONSECUTIVES. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 23—31.

L'EXAMEN MICROSCOPIQUE PEUT-IL SERVIR AU DIAGNOSTIC DES ALOPECIES? *In: Entretiens* DERMATOL., n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 55—63.

*DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DU FAVUS. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 82—88 (1 Pl.).

QUELQUES REMARQUES CLINIQUES CONCERNANT L'ETIOLOGIE DE LA PELADE. *In: Entretiens dermatol.* n. série, II, *Paris*, 1924, p. 109—115.

LES PELADES QUI NE GUERISSENT PAS COMPLETEMENT. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 149—151 (1 pl.).

FREQUENCE DE LA PELADE AUX DIFFERENTS AGES. *In: Entretiens dermatol.* 2ème série, II, *Paris*, 1924, p. 165—172.

QUELQUES REGLES A SUIVRE DANS LE TRAITEMENT DE LA PELADE. *Médecine*, VI, 1924—25, p. 108—112.

LA SYPHILIS HEREDITAIRE QU'ON IGNORE. *In: Entretiens dermatol.* n. sér. II, *Paris*, 1924, p. 237—244 (2 Pl.).

*SUR LA CLASSIFICATION BOTANIQUE DES DERMATOPHYTES (Revue critique). *Annales de parasitiologie*, II, 1924, p. 172—177.

PRATICA THERAPEUTICA NAS DERMATOSES BANAES. *Revista med. cirurg. de Brazil* XXXII, 1924, p. 178—185.

*Les teignes. *Revue scientifique.* LXII, 1924, p. 609—615.
Les teintures de cheveux. *Presse médicale* XXXII, 1924, (annexe) p. 899—905.

1925

Erytheme circiné centrifuge. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXXII 1925, p. 19.
Discours de M. Sabouraud (élu Président de la Société). *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXXII, 1925, p. 255—260.
*Note sur le remplacement de tout sucre dans les milieux de culture des dermatophytes par le miel d'abeilles. *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème sér. VI, 1925, p. 515—517.
Etude iconographique de la pustule staphylococcique et des lesions derivées d'elle. *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème série, VI, 1925, p. 353—377 (17 fig.).
Etude iconographique de la staphylo-pustule et des lesions derivées d'elles (2ème mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème série, VI. 1925, p. 417—439 (16 fig.).
Sur les moyens de retarder la decrepitude des vieux visages. *Presse médicale,* N° 3, 10 Janvier 1925, p. 43—44.
Eczemas of the scalp causing baldness. *Medical Press,* n. ser. CXIX, 1925, p. 273.
Role de la seborrhée micro-bacillaire dans le vieillissement prematuré du visage. *Revista dermatologica* (Buenos-Aires), XI, 1925—26, p. 000.
Quelques mots pratiques concernant le traitement de l'acne polymorphe. *Médecine VII,* 1925—26, p. 110—112.

1926

Note sur les formes attenuées de l'acne necrotique en general. *Presse médicale,* LIX, 16 Janvier 1926, p. 59—62.
Les plus frequentes dermatoses du cuir chevelu et leur traitement. *Presse médicale,* XXXIV, N° 61—31 Juillet 1926 p. 961—964.
Ce que nous ont appris les intertrigos. *Médecine* VIII, Nov. 1926, p. 103—109.
Etude iconographique de la pustule staphylococcique et des lesions derivées d'elle. Les infections folliculaires chroniques du staphylocoque (Les sycosis) (3ème mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème sér. VII, 1926, p. 1—18 (13 fig.).
Etude iconographique de la pustule staphylococcique et des lesions derivées d'elle. Les sycosis nodulaires. (Plasmômes). (4ème mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème série, VII, 1926 p. 129—141. (10 fig.).
Etude iconographique de la pustule staphylococcique et des lesions derivées d'elle. (Les sycosis). (5ème mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème sér. VII, 1926, p. 403—414 (11 fig.).
A propos de l'eau d'alibour et de sa formule. *Gazette médicale de Bretagne.* 1926, p. 675.

1927

Preface de M. R. Sabouraud, à: Photinos (Th. B.) la dermatite lineaire rampante, creeping disease, larva migrans. *Paris,* 1927. Impr.-édition méd. 248 p. 8° (fig.).

Les plus frequentes affections du cuir chevelu chez l'enfant. *Clinique*, XXII, mai (B) 1927, p. 225—227.

Sur les streptococcides eczematiformes. *Annales de dermat. et syphil.* 6ème série VIII, 1927, p. 321—325.

Allocution de Sabouraud, Président sortant. *Bulletin Soc. fr. de dermat. et syphil.* XXXIV 1927, p. 377—379.

A propos de l'anatomie pathologique du lichen plan. *Bulletin Soc. fr. de dermat. et syphil.* XXXIV, 1927, p. 521—522.

Observations concernant le travail precedent de mme pelevine et de m. tchernogouroff (Trichophytie chronique de la peau) *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème sér. VIII. 1927, p. 420—424.

Pelade et hyperthyroidisme. *Médecine*, IX, nov. 1927, p. 117—121.

Diagnosis and treatment of diffuse alopecias. *Urologie a. Cutaneous Review*, XXXI, N° 10, Oct. 1927 p. 649—653.

1928

Sur les „eczemas" microbiens. *Presse médicale*, N° 36, 5 mai 1928, p. 563—565. Et tirage à part: *Paris*, 1928, Masson & Cie., 19 p. 8°.

Du role de l'idiosyncrasie dans les infections cutanées chroniques. *Presse médicale*, n° 68, 25 Août 1928, p. 1075—1078. Et tirage à part: *Paris*, 1928, Masson et Cie, 19 p. 8°.

*Generalités concernant les dermatophytes. (1er mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème série IX, n° 8. Août 1928, p. 656—669.

*Genetralités concernant les dermatophytes (2ème Mémoire): sur le „trichophyton violaceum". *Annales de dermatologie et syphil.* 6ème série IX n° 9, Sept. 1928 p. 769—777.

*A propos des tondantes a culture violette et des formes cliniques rares du favus. Annales de dermat. et syphil. 6ème série, 9, 1928, p. 1030—1031.

Sur les eczemas impetigineux. *Gazette méd. de France*, II, 15 Jiun 1928, p. 284—287 et *Gazette médicale du Nord*, 15 Juin 1928, p. 284—287.

Sur les dermatoses chroniques fabriquées par les mythomanes. (Pathominie de Dieulafoy). *Clinique*, XXIII, oct. (B) 1928, p. 355—357.

*Sur la nouvelle classification des dermatophytes proposée par M. Grigoraki. *Annales de parasitol.* VI, 1° Oct. 1928, p. 455—469.

Du traitement par l'huile de cade de la pelade du cuir chevelu. *Médecine*, IX, nov. 1928, p. 1057—1061.

1929

Raymond Sabouraud, Sculpteur. Préface par Elie Faure. *Paris*, 1929, M. &. J. de Brunhoff, 8°.

Discours de m. Sabouraud, Président du IV° Congrès der dermatologistes et syphiligraphes de langue française (*Paris*, 25—27 Juli). (1929). *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème série X, 1929, p. 1085—1096.

Discours de m. Sabouraud. *In: Hommage au Dr. Sabouraud*, p. 499—508. *Revue fr. de dermat. et vénéréol.* V. 1929, p. 504—508. *Paris*, 1929, (plaquette) 8° (chez Masson).

*Generalités concernant les dermatophytes (3ème mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème sér. X, n° 3, mars 1929, p. 236—245 (6 fig.).

*Generalités concernant les dermatophytes. Le probleme des cultures glabres (4ème Mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 6° série X, N° 4, avril 1929, p. 345—353 (4 schémas).

*Generalités concernant les dermatophytes. Le probleme du pleomorphisme des cultures des dermatophytes (5ème mémoire). *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème série, X, n° 5, Mai 1929, p. 481—486.

*Generalités concernant les dermatophytes (6ème mémoire): de la classification naturelle des dermatophytes. *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème série. X. N° 6, Juin 1929, p. 569—580 (6 fig.).

Sur l'etiologie de la pelade. *Archives dermato-syphiligraphiques de la Clinique de l'Hôpital Saint-Louis.* I, 1929, p. 31—49 (8 fig.).

*Generalités concernant les teignes. *Archives dermato-syphiligraphiques de la Clinique de l'Hopital Saint-Louis.* I, 1929, p. 215—231 (7 fig.).

*A propos du memoire de m. Grigoraki (Dermatophytes et dermatomycoses). *Annales de dermat. et syphil.* 6ème sér. X, N° 1 pour 1929, p. 69—72.

*Reponse (à L. Grigoraki). *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème sér. X, 1929, p. 294.

*Aleuries et rudiments de fuseaux obtenus sur la culture d'achorion schoenleini. *Annales de dermatol. et syphil.* 6ème sér. X, n° 3, mars 1929, p. 232—235 (5 fig.). (en coll. avec P. Negroni).

*La loi de specificité des dermatophytes. *Schweizer-medizin-Wochenschr.* LIX. 30 Nov. 1929, p. 1210—1213.

Sur le danger des pommades a l'acetate de thallium prescrites contre l'hypertrichose. *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXXVI, 1929, p. 12—14 (et disc.) p. 14—18.

Le danger des pommades a l'acetate de thallium dans l'hypertrichose. *Clinique*, XXIV, Oct. (B) 1929, p. 343.

La pratique de l'alcool iodé en dermatologie. *Médecine* X, nov. 1929, p. 857—863.

1930

Sur l'emploi des pommades au cuir chevelu. *Bulletin médical* XLIV, 10 Mai 1930, p. 343—345.

Un fait a propos des eczemas de cause externe (et disc.) *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXXVII, 1930, p. 472—475.

Allocution de m. Sabouraud (à la réunion dermatol. de Strasbourg 8 Juin 1930). *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXXVII, 1930, (R. de Strasbourg) p. 858.

„La roue des choses" (A propos de l'étiologie de l'eczéma). *Annales de dermatol. et syphil.* 7ème série, I. N° 3, 1930 p. 257—260.

Sur une forme particuliere de lupus erythemateux du cuir chevelu. *Annales de dermatol. et Syphil.* 7ème série I, N° 4, Avril 1930, pl. 361—363.

*Sur traitement par les pates epilatoires des mycoses interdigitales chroniques. *Annales de dermatol. et syphil.* 7ème série I. n° 9, sept. 1930, p. 921—926.

Sur les dermatoses chroniques streptococciques. *Presse médicale*, N° 3, 8 Janvier 1930, p. 33—35 (2 fig.) et tirage à part. *Paris*, 1930, Masson & Cie, 20 p. 8° (2 fig.).

Le diagnostic des syphilides en corimbes au cuir chevelu. *Presse médicale*; n° 32, 18 Avril 1930, p. 337—338.

Sur la pelade. L'hyperthyroidisme latent, les insomnies, et sur l'hematoethyroidine employée comme hypnotique. *Presse médicale,* N° 45, 4 Juin. 1930, p. 757—758 et tirage à part. *Paris,* 1930, Masson & Cie, 8 p. 8°.

L'acne furonculeuse de la nuque. *Gazette médicale de France,* N° 10, 15 Mai 1930, p. 245—248.

Sobre las estreptococcias epidermicas cronicas del cuero cabelludo. *Dia med.* II, 24 Février 1930, p. 545.

*Sur le traitement medical des onychomycoses. *Clinique,* XXV, mars (A) 1930, p. 82—85.

Les mefaits du sulfure de potasse employé contre les pityriasis du cuir chevelu. *Clinique,* XXV, Juin 1930 (2) p. 207—208.

Importance de la depilation retro-auriculaire dans le diagnostic differentiel des alopecies. *Clinique,* XXV, (A) 1930), p. 367—368.

Sur l'etiologie et la pathogenie de l'eczema. *In: VIII°* Congrès internat. de dermatol. et de syphil. *Copenhague,* 5 au 9 Août 1930. *Comptes Rendus des séances. Copenhague* 1931, 8° p. 131—134.

Sur le demembrement de l'eczema seborreheique. *Archives dermato-syphiligraphiques de la Clinique de l'Hôpital Saint-Louis.* II, 1930, p. 1—15 (6 fig.).

Etiologie et pathogenie de l'acne; sa therapeutique. *Archives dermato-syphiligraphiques de la Clinique de l'Hôpital Saint-Louis.* II, 1930, p. 537—551 (5 fig.).

Les dermites exfoliatives des doigts d'origine streptococcique. *Médecine* XI, nov. 1930, p. 857—858.

1931

Regimes alimentaires et traitement de l'eczema. *Clinique,* XXVI, 1931, p. 69.

Sur les depilatoires. *Clinique,* XXVI, p. 100—102, 1931.

Opposition des affections du cuir chevelu les plus communes a l'age mur chez l'homme et chez la femme (et disc.). *Bulletin Soc. fr. de dermatol. et syphil.* XXXVII 1931, p. 1424—1429.

*Traitement des epidermophyties des plis et des ongles. *Médecine,* XII, nov. 1931, p. 889—893.

Le role de l'epilation a la pince en dermatologie. *Presse médicale,* XXXIX, 24 jour. 1931, p. 113—115.

Diagnosis of corymbose tertiary syphilides on scalp. *Méd. Press.* XIII, 25 Février 1931, p. 159.

Sur les origines et les sources premieres des infections cutanées chroniques. *Presse médicale,* XXXIX, 17 Juin 1931, p. 890—892.

*Eugene Bodin (1868—1931). *Presse médicale* XXXIX, 24 Juin 1931 p. 941 et *Annales de dermatol. et syphil.* 7ème série, II n° 7, Juillet 1931, p. 829—832.

Importance doctrinale des epidermites traumatiques et professionnelles. *In: Miscellanea dermatologica* (Francisco Samberger) *Prague* 1931, 345—351, et *Ceska dermatol.* (suppl. XII, 1931, p. 345—351).

Du traitement de la seborrhée. *Archives dermato-syphiligraphiques de la Clinique de l'Hôpital Saint-Louis.* III, 1931, p. 185—200 (3 fig.).

Des parakeratoses microbiennes du bout des doigts. *Annales de dermatol. et syphil.* 7ème série II, février 1931, p. 206—210.

De l'alopecie liminaire frontale. *Annales de dermatol. et syphil.* 7ème série II, n° 4 Avril 1931, p. 446—440.

1932

OPPOSITION CHEZ L'HOMME ET CHEZ LA FEMME, DES AFFECTIONS DU CUIR CHEVELU LES PLUS COMMUNES A L'AGE MUR. *Clinique*, XXVII, février (B) 1932, p. 63—64.

LA CALOTTE DU NOURRISSON. *Clinique*, XXVII, 1932, p. 145.

DES SYCOSIS. *Archives dermato-syphiligr. de la Clinique de l'Hôpital Saint-Louis.* IV, 1932, p. 145—156 (2 fig.).

DE LA VERRUE GRISE SENILE. *Clinique* XXVII, nov. (B) 1932 p. 331—332.

L'ECZEMA: CE QUE NOUS EN SAVONS ET N'EN SAVONS PAS. *Presse médicale*, XL, 10 Février 1932, p. 217—219.

A PROPOS DES ECZEMAS IMPETIGINEUX. *Médecine*, XIII, oct. 1932, p. 766—770.

COUP D'OEIL D'ENSEMBLE SUR L'EVOLUTION DE LA DERMATOLOGIE CONTEMPORAINE. *Revista argent. de dermatosifilol.* XVI, Nov. 1932, p. 190—198.

1933

COUP D'OEIL D'ENSEMBLE SUR LES PYODERMITES. *Archives dermato-syphiligr. de la Clinique de l'Hôpital Saint-Louis.* V. 1933, p. 1—22 — (5 fig.).

EMILE ROUX. — QUELQUES SOUVENIRS. *Bulletin médical* XLVII, 16 Déc. 1933, p. 801—802.

PELE-MELE. REGARDS EN MOI ET AUTOUR DE MOI. *Paris*, 1933, Plon, 249 p. 12°.

A PROPOS DES ECZEMAS DU PAVILLON DE L'ORIELLE. *Médecine*, XIV, oct. 1933 p. 786—790.

1934

LES ALOPECIES CICATRICIELLES DE CUIR CHEVELU. *Archives dermato-syphiligr. de la Clinique de l'Hôpital Saint-Louis.* VI, 1934, p. 1—16.

EVOLUTION DE NOS IDÉES CONCERNANT L'ETIOLOGIE DE L'ECZEMA (Quelques souvenirs). *Archives dermato-syphiligraphiques de la Clinique de l'Hôpital Saint-Louis.* VI, 1934, p. 385—401.

LA FAUSSE TEIGNE AMIANTACÉE D'ALIBERT ET SA DIFFERENCIATION AVEC LES ERUPTIONS IMPETIGINEUSES DIFFUSES DU CUIR CHEVELU. *Paris Médical*, n° 3, 20 Janvier 1934, p. 54—62 (12 fig.).

DE DEUX PRURITS TRES FREQUENTS. *Clinique* XXIX, Mars (B) 1934, p. 95—96.

SUR LE TRAITEMENT DE LA PELADE. *Pratique médicale française*, XV, mai (2) 1934, p. 325—332.

LE MEDECIN HORS LA MEDECINE. *Presse médicale* XLII, 16 Mai 1934, p. 801—803.

COMMENT LE MEDECIN SE DIFFERENCIE DES AUTRES HOMMES. *Presse médicale*, XLII, 5 Mai 1934, p. 739—741.

LES BLEPHARITES. *Médecine* XV, Oct. 1934, p. 825—829.

1935

LA DOUBLE CAUTERISATION AU NITRATE D'ARGENT ET AU ZINC METALLIQUE. *Bull. Soc. fr. de dermatol. et syphil.* N° 6 Juin 1935 (R. de Strasbourg, p. 866—867).

L'ALCOOL IODE AI $^1/_{100}°$. *Bull. Soc. fr. de dermatol. et Syphil.* n° 6, Juin 1935 (R. de Strasbourg) p. 867.

QUE QUELQUE POINTS DE LA PATHOLOGIE DU FOLLICULE PILAIRE ET DU POIL. *Bull. Soc. fr. de dermatol. et syphil.* N° 6 Juin 1935 (R. de Strasb.) p. 869—885 (11 fig.) et *Médecin d'Alsace et de Lorraine*, Juillet 1935 p. 239—308.

SUR LE TRAITEMENT DE LA LEUCOPLASIE BUCCALE IDIOPATHIQUE. *Médecine* XVI, Oct. 1935, p. 814—818.

DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT DES AFFECTIONS LES PLUS BANALES DU CUIR CHEVELU DE L'ENFANT A L'AGE SCOLAIRE. *Revue médico-sociale de l'enfance*, III n° 4 1935, p. 241—247.

1936

ESSAI SUR NOTRE CONCEPTION ACTUELLE DE L'ECZEMA. *Archives dermato-syphil. de la Clinique de l'Hôpital Saint-Louis*, VIII, 1936, p. 185—198.

UNE „NOUVELLE PRATIQUE DERMATOLOGIQUE". *Presse médicale* N° 19, 4 Mars 1936, p. 371—373.

A PROPOS DE QUELQUES DEBATS SCIENTIFIQUES RECENTS. *Presse médicale.* N° 29, 8 Avril 1936, p. 598—599.

NOS IDOLES. *Presse médicale* N° 44, 30 Mai 1936, p. 885—886.

ETIOLOGIE ET THEOLOGIE. *Presse Médicale* N° 59, 22 Juillet 1936, p. 1197.

ROLE DU MEDECIN A TRAVERS LES AGES. CONFERENCE A L'HOPITAL GENERAL DE ROUEN. *Normandie Médicale*, Février, 1936, p. 47—61.

DES INTERTRIGOS. *Clinique*, N° 266, mai 1936 (B), p. 151—154.

DE L'ACNE ROSÉE OU COUPEROSE. *Médecine* XVII, n° 14, octobre 1936, p. 822.

*MALADIES CRYPTOGAMIQUES DU CUIR CHEVELU. LES TEIGNES. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1936, Masson & Cie., t. II, p. 98—211.

*LE FAVUS: FAVUS A GODETS: FAVUS NORMAL. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1936 Masson & Cie, t. II; p. 112.

*LES MICROSPORUMS. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1936, Masson & Cie, t. II; p. 125.

*LES MICROIDES. LES KERIONS. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1936, Masson & Cie, t. II, p. 149.

*LES TRICHOPHYTONS. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1936, Masson & Cie, t. II p. 161.

*LES ECTOTHRIX. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1936, Masson & Cie, t. II; p. 185.

*LES MEGASPORÉS. *In: Nouvelle Pratique dermatologique Paris*, 1936, Masson & Cie, t. II.

*EPIDERMOPHYTIES. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1936, Masson & Cie, t. II, p. 238—264.

STAPHYLOCOCCIES: FOLLICULITES. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1926, Masson & Cie., t. IV, p. 167—213.

LA SEBORRHÉE. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 10.

DE L'ACNE. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1936, Masson & Cie., t. VIII, p. 21.

ACNE CONGLOBATA. PERIFOLLICULITIS CAPITIS ABSCEDENS ET SUFFODIENS. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris*, 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 58 (En collab. avec M. Pignot).

Acne necrotique. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 68 .

De la seborrhée, des etats pre-seborrheiques et post-seborrheiques. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 1—82.

Hypertrichose (en collab. avec. M. Pignot). *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 92—115.

Maladies des poils. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie, t. VII, p. 114.

*Trichophytose. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 114—115.

Trichorrexie noueuse. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie. t. VII, p. 116—118.

Trichoclasie idiopathique. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 119—121.

Monilethrix. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 122—128.

Alopecies. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 129—158.

La pelade. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 159—210.

Pseudo-pelade de Brocq. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 211—221.

Folliculites. *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 222.

Canitie. (En collab. avec M. Pignot). *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VII, p. 223—240.

Loupes (du cuir chevelu). (En collaboration avec M. Pignot). *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VIII, p. 49.

Syphilis du cuir chevelu (en collab. avec M. Pignot). *In: Nouvelle Pratique dermatologique. Paris,* 1936, Masson & Cie., t. VIII, p. 50.

1937

Philosophie des reflexes. *La Presse Médicale.* N° 6 du 29 Janvier 1937. *Paris.* p. 109 et 110.

Fig. 1

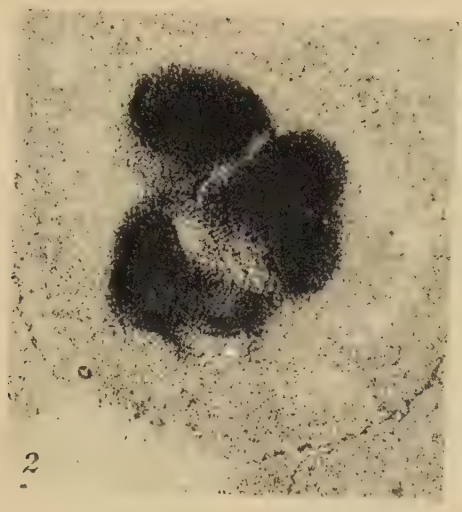


Fig. 2

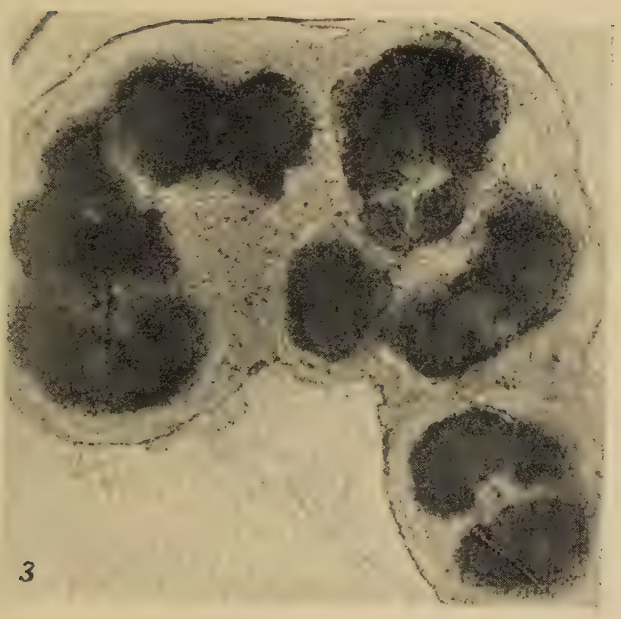


Fig. 3

Fig. 4

Fig. 1. Clinical lesion.
Fig. 2. Preparation of the pus, showing a grain with its black colour. Amplified 200 times.
Fig. 3. A group of black granules envelopped by a mucilaginous substance. Amplified 80 times.
Fig. 4. Microsection showing some granules of a very dark colour. Stained by Haematoxylin-eosine. Amplified 80 times.

Fig. 1

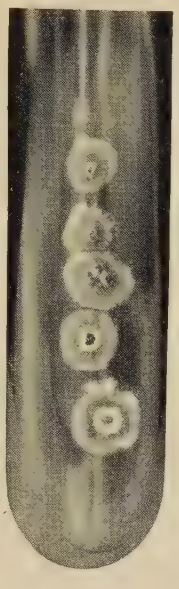


Fig. 2

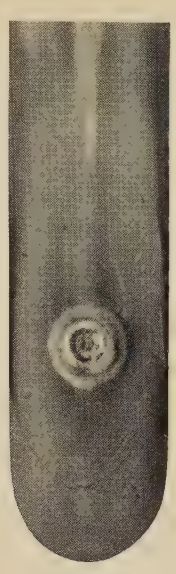


Fig. 3

Fig. 4

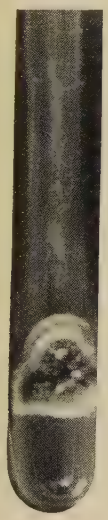


Fig. 5

Fig. 6

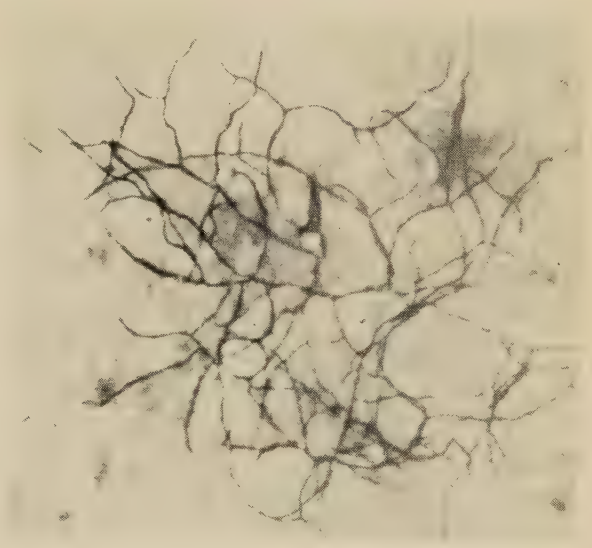


Fig. 7

Fig. 1. A granule of the same preparation showing clubs. Amplified 800 times.
Fig. 2. Colonies obtained from granules.
Fig. 3. Colony on Sabouraud's agar glycose.
Fig. 4. Potato culture.
Fig. 5. Agar culture
Fig. 6. Agar glycose on Erlenmeyer glass. Culture 2 months old.
Fig. 7. Microscopic aspect of a Gram stained culture. Amplified 1000 times.

Study of a black grain mycetoma due to *Actinomyces paraguayensis* Almeida, n.sp.

by

Floriano de Almeida, M.D.

(*Docente livre and Assistant of the Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo, Brazil*)

With plates XXV and XXVI.

(30.VI.1939.)

In the early days of february 1939, Dr. Gonzales Torres came up to us and asked for the elucidation of a clinical diagnosis. The case concerns Mr. P. F., canadian, living in Paraguayan Chaco: he presented an extensive cutaneous lesion on the right axilar region, stretching out upwards to the chest (plate XXV fig. 1), covered with numerous crusts. On making away with portions of these crusts, it poured out a slightly gloomy liquid containing numerous heavy dark grains, easy to be seen by naked eye. Thus the case concerned refers to a dark grain bearing mycetoma. The microscopical examination of such grains made on fresh preparations between slide and cover glass allowed us to verify the presence of a club bearing specimen of fungus of the *Actinomyces* type. These grains, relatively bulky, some of them measuring about $^1/_2$ mm., presented themselves either isolated or gathered together and involved by a kind of sheath or mucilaginous gangue (plate XXV figs. 2 and 3).

In fig. 2 (plate XXV), numerous clubs are to be seen in the middle portion of the grains.

A piece of tissue removed and examined presented superficial lesions. The grains were either detached or clustered.

In fig. 4, plate XXV, several grains are laying beneath the lining epithelium; there does not exist a defence reaction on the part of the neighbouring tissue. In fig. 1, plate XXVI, the same preparation, 800 times amplified, shows a grain with characteristic clubs. In this figure we can even see the compact nature of the central portion of the grain: it does not exhibit a filamentous structure; it is shapeless, as it is the rule where *Actinomyces* are concerned. In this fig., as in fig. 4 plate XXV, our attention is particularly called to the dark hue of the grains.

After these short considerations we pass to consider the culture obtained.

Cultural observation:

The withdrawal of the crust from one of the lesions allowed the escape of a puslike fluid that had in suspension numerous grains of a heavy dark, nearly black tint. Gathered and inoculated in different tubes of *Sabouraud glucose agar*, each grain laid down a pure colony that started a few days later under the shape of a central black spot surrounded by a white peripheris area. The colony had a creamy aspect. Its growth was rapid.

In course of time the white colouring matter was gradually changed into a dark yellow, almost chocolate colouring substance. That somewhat black dye in the tubes with several colonies extended to the cultural medium too, whereas in the tubes containing only one colony the appearance of the medium was almost unaltered.

The figs. 2 and 3, plate XXVI, show two tubes with cultures twenty days old, attending to the conditions described above.

In fig. 3, plate XXVI one can see that the colony presents itself with a dark elevated central point surrounded by a white area that cracks by the appearance of a dark raising circle as the colony grows on. On the outside of the white area the colony continues itself into a dark circular area which binds itself intimately to the cultural medium, piercing into it.

The colony is resistant and is almost entirely detached from the cultural medium when one tries to take out a fragment. Some grains planted in *Sabouraud fluid medium* developed at the bottom of the tube as white colonies with a dark central portion.

The newly formed colonies continue to show the dark central portion.

Potato. — The development of the fungus on potato, glycerinated or not, came out a little different. The colonies are rough and white, dried and friable from the very beginning (fig. 4, plate XXVI).

Plain agar. — On this medium, too, the growth advances regularly though the macroscopic aspect is different. The colonies belong to the membranous type, sticky to the medium, and show a rough studded surface (fig. 5, plate XXVI). Its staining capacity is somewhat altered, being dark grey in some points; it exhibits radiated and circular grooves.

Milk. — In plain milk the fungus grows on the surface, so that in a few days it yields a thick colony, which forms a resistant membrane; by its growth, the membrane blocks the fluid medium. Later on the milk changes to a pink colouring, but is neither peptonised nor modified in its reaction.

Must gelatin. — Grows on the surface, without melting of the medium.

Sabouraud's Glucose-Agar in glass flask. The initial aspect of the colony is the same related for the tubes, but after two months the entirely white colony becomes dry and cracked (fig. 6, plate XXVI).

Sauton's medium. — Fluid in glass flask. Growth takes place slowly. The colony, superficial at the beginning, deepens to the bottom later on; there is no membrane formation. As time goed on, numerous creamy white flakes appear dispersed at the bottom of the flask, and present a dark central portion.

Microscopical observation:

Sabouraud's glucose. — Preparation made on a fragment retired from the colony and crushed between slide and covering. Clearing dye used: glycerin methylene blue. Only ramified, long and thin mycelian filaments were found.

Smears made and stained by Gram and Ziehl-Neelsen methods showed ramified, filamentous forms. They are Gram-positive and not acid-alcohol resistant. By Ziehl-Neelsen process the mycelian filaments exhibit small granulations strongly stained by methylene blue.

By Gram method (fig. 7, plate XXVI), together with positive filaments one sees other negative ones, that is, red stained; in these filaments thin gramophila granulations were seen in the interior. The Gram positive filaments measure about 1 micron for diameter; the negative ones are thinner.

Sauton's medium — A small colony was examined on microscope: it was noticed that the dark central part presented mycelian filaments, thicker and darker, whereas the external portion of that central nucleus is formed by filaments clearer and thinner.

By the morphobiological characteristics presented by the *Actinomyces* now isolated, we think to be dealing with a new species, to which we propose the name *paraguayensis*. As it is, so we have the new species:

Actinomyces paraguayensis Almeida, n. sp.

Sample isolated from thoracic mycetoma of heavy dark grains. Easy cultivation in several media. On *Sabouraud glucose agar*: at first pseudomembranous colony, with raising dark central portion surrounded by a white band that grows on steadily; outside this area, another one of clear chocolate colouring. In course of two months it assumes the cerebriform aspect and turns almost white. On single or glycerinated potato, white cere-

briform colony. It does not form membrane in fluid media, except in single milk. It does not liquefy gelatin.

Microscopically: thin, ramified mycelian filaments, the thickest one reaching 1 micron for diameter. Gram positive and non acid-alcohol resistant.

Actinomyces paraguayensis Almeida, n. sp.

Exemplar singulare mycetomae pectoralis, granis obscuris fere nigris. Cultus in plurimis locis vel corporibus idem aptis facilis est. In agaro cum glucosio (Sabouraud), colonia falso membranosa ab initio propagat, centrali altitudine obscura, circumdata parte alba, paulatim crescente, extra hanc partem alia est, colorem leviter leucophaeum ostendens.

Duos post menses cerebri formam, coloremque totum album habet. In simplici Solano Tuberoso vel glycerinato crescit, cerebri quoque aspectu, coloreque albo.

In liquidis locis pelliculas non gignit, praeter in simplici lacte; gelatinam non liquefacit.

Microscopice fibras in ramusculis divisae, tenues, invenimus, majores unum diametri micron habentes.

Biologische und klinische Ausblicke der neueren Thallium-Forschung mit besonderer Beziehung zu den Haarpilz-Krankheiten

von

A. Buschke und B. Peiser.

(11.9.39)

Bis in die letzte Zeit finden sich immer wieder Arbeiten, die sich mit den interessanten Wirkungen des Thalliums beschäftigen. Teils sind sie experimenteller Natur und geben eine Bestätigung und Ergänzung unserer Forschungs-Ergebnisse über die biologischen Wirkungen des Thalliums, teils liefern sie weitere Beitrage fur die klinische Verwendung des Thalliums bei Haarpilz-Erkrankungen der Kinder und die dabei beobachteten Intoxikations-Erscheinungen und schliesslich beschäftigen sie sich mit dem Krankheitsbild der akuten Thallium-Vergiftung, die durch die in den letzten Jahren zunehmende kriminelle Verwendung des Thalliums grössere allgemeine praktische Bedeutung gewonnen hat. Alle diese Arbeiten gehen von den durch unsere langjährigen Untersuchungen festgestellten hochinteressanten Wirkungen des Thalliums auf den Organismus aus und zeigen uns, dass wir es bei dem Thallium mit einem ganz besonderen Stoff zu tun haben, der die biologischen Vorgänge in ganz specifischer Weise beeinflusst.

Schon das bemerkenswerteste Symptom, der Haarausfall, stellt einen so eigenartigen Vorgang, der durch kein anderes Mittel zu erreichen ist, dar ,dass schon daraufhin dem Thallium eine ganz besondere Rolle hinsichtlich seines Wirkungs-Mechanismus zuzuerkennen ist. Dies war auch der Anlass, dass wir in langjährigen ausgedehnten Untersuchungen die Einwirkungen des Thalliums auf den tierischen Organismus weiter erforschten, wobei sich ein Bild von Veränderungen ergab, das die besondere Stellung des Thalliums in seinem Wirken auf die biologischen Vorgänge im lebenden Organismus kennzeichnet. Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, dass der Weg, über den die Thallium-Alopecie zustande kommt, mit grösster Wahrscheinlichkeit über das endokrin-vegetative System geht, dem alle durch das Thallium bei vorsichtiger Darreichnug hervorgerufenen Störungen, auch die Alopecie, untergeordnet sind. Es zeigte sich nähmlich im Verlauf der Untersuchungen, die fast ausschliesslich an jungen Ratten angestellt wurden, da an ihnen besonders gut die Wirkung des Thalliums zum Ausdruck kam, dass der Haarausfall zwar das erste und hervorstechendste Symptom nach Thalliumfütterung darstellt, dass aber durch lange fortgesetzte Thalliumzufuhr sich bei den Tieren ein Komplex von Erscheinungen entwickelt, der Hand in Hand mit dem Fortschreiten des Haarausfalls ging Die jungen Tiere blieben im Wachstum und in der Entwicklung zuruck, gleichzeitig war eine Herabminderung der gesclechtlichen Funktionen zu beobachten. Die Psyche der Tiere war meist stark verändert, sodass manche Tier in ihrem vollständig nackten, zwerghaften Zustand einen geradezu kretinhaften Eindruck machten. Dabei war auffallend dass die Sinneshaare der Tiere niemals von der Thallium-Alopecie mitbetroffen wurde, sondern dass die selbst bei völligem Haarverlust stets voll erhalten blieben. Es ergibt sich hier eine ausgesprochene Analogie zu in der Natur beobachteten Fällen von physiologischen und pathologischen Hemmungsbildungen des Haarkleides bei Tieren, wo die Sinneshaare stets bestehen bleiben. Wie wir bereits früher ausführlich dargelegt haben, be-

steht nicht nur anatomisch, sondern auch funktionell zwischen diesen beiden Haarsystemen ein bedeutender Unterscheid, indem die Sinneshaare dem Zentralnervensystems unterstehen, während das übrige Haarkleid dem Einfluss des Sympathikus unterworfen ist. Es spricht nun daraus im Sinne der endokrin-sympatischen Genese der Thallium-Alopecie, dass nur das vom Sympathikus innervierte Haarkleid von der Alopezie betroffen wird, während die dem Einfluss des zerebrospinalen Nervensystems unterstehenden Sinneshaare niemals durch das Thallium beeinflusst werden. Auch bei der klinischen Verwendung des Thalliums liess sich die Beobachtung machen, dass bestimmte Haarbezirke beim Menschen, wie z.B. der innere Augenbrauenteil, der den Sinneshaaren nahestehen soll, sich dem Thallium gegenüber resistenter verhält als das Kopfhaar.

Die bereits sehr frühzeitig zu beobachtende Kataraktbildung bei einem gewissen Prozentsatz der mit Thallium gefütterten Tiere liess ebenfalls eine ähnliche Genese vermuten, zumal wir in gemeinsamen Untersuchungen mit Ginsberg eine Form der Katarakt mit entzündlichen Erscheinungen an der Iris fanden, die eine weitgehende Ähnlichkeit mit den Starformen haben, die experimentell an jungen Ratten nach operativer nung der Epithel-Körperchen zur Beobachtung gekommen sind. Allerdings wird von anderer ophthalmologischer Seite (Donski, Goldmann) diese Genese der Thallium-Katarakt bezweifelt, da sich nach Ansicht dieser Autoren die Thallium-Katarakt morphologisch von der Tetanie-Katarakt unterscheidet, und demgegenüber als direkte Schädigung der Linse durch das Thallium angesehen wird. Ob dies zutrifft, können wir nicht entscheiden, zumal wenn wir die Bilder in der Meesmannschen Arbeit von der Tetanie-Katarakt sehen, die doch anscheinend nicht einheitlich sind. Letzterer Autor hat sich in einer zusammenfassenden Arbeit: „Hypokalzämie und Linse, ein Beitrag zur Behandlung der Tetanie und der Cataracta tetanica mit A T 10 Holtz," (Stuttgart 1938). mit der Wirkung dieses Mittels, das bekanntlich durch Erhöhung des gesenkten Kalkspiegels im Blut und auch in den Organen einen günstigen Einfluss auf die Rachitis und vor allem auf die Tetanie ausübt, beschäftigt und auch bei der Tetanie-Katarakt, wenn das Präparat zu bestimmter Zeit verabreicht wurde, einen günstigen Einfluss beschrieben.

Gemeinsam mit Konheim wurden daher Versuche gemacht, die Thallium-Katarakt auf diese Wiese zu beeinflussen, wie es Rauh zuerst bei der Tetaniekatarakt gelungen ist, um durch Gegenwirkung von A T 10 diese Frage bezüglich der Beziehungen von Tetanie- und Thallium-Katarakt zur Entscheidung zu bringen. Aber diese Versuche scheiterten daran, dass gute Thallium-Katarakte nicht in Erscheinung traten, wie wir sie früher vielfach ebenso wie später auch Manoli und Donski beobachten konnten. Es kommt das wohl zum grossen Teil daher, dass, wie wir das in früheren Arbeiten schon erwähnt haben bestimmte Rattenfamilien sich dafür eignen, andere nicht. Bei diesen Versuchen wurde nun eine andere Beobachtung gemacht, die uns ebenfalls von gewisser Bedeutung in der Thalliumfrage zu sein scheint. Wie bereits erwähnt, konnten wir als regelmässigen Befund feststellen, dass, wenn wir jugendliche Ratten die noch im Wachstum waren, mit Thallium chronisch behandelten, diese im Wachstum zurückblieben. Die histologischen Untersuchungen, die wir zusammen mit Christeller und Löwenstein ausführten, gaben Befunde der fibrösen Mark-Umwandlung, der osteoiden Säume von reichlich vorhandenen Osteoklasten. Diese Befunde erinnerten an Resorptions-Wucherungsherde bei Ostitis fibrosa und Rachitis; die Durchleuchtung der Knochen, auch des Schädels, ergab eine stärkere Durchlässigkeit für Röntgenstrahlen als die der normalen Knochen. Die Veränderungen am Skeletsystem zeigten ungewöhnliche Weichheit der Knochen sowie Verunstaltungen derselben, die teils durch Verkrümmungen, teils durch knotenförmige Auftreibungen, Wucherungen reinen osteoiden Gewebes bedingt waren. Dieser durch eine

schwere Störung der Knochenverkalkung verursachte Knochenerweichungsvorgang fand in den blut-chemischen Untersucheungen gemeinsam mit KLOPSTOCK seine Deutung, die eine Herabsetzung des Kalziumspiegels in Serum ergaben. Die durch ROMINGER, MEYER und BOMSKOV dabei beobachteten Stoffwechsel-Störungen sind die gleichen wie bei der durch andere Noxen hervorgerufenen menschlichen und tierischen Rachitis. Diese Autoren haben ihre grosse Arbeit auch über Thallium-Rachitis betitelt. Zunächst findet sich nach den Angaben dieser Autoren bei der Thallium-rachitis, ebenso wie bei der menschlichen Rachitis, zunächst eine Störung des Phosphor-Haushaltes, die dem Manifestwerden der Erscheinungen vorausgeht. Erst bei fortgeschrittener Thalliumwirkung wird die anfangs noch ungestörte Ca-Retention allmählich schlechter, während die P-Haushalts-Störung rasch fortschreitet. Danach wäre die Ursache dieser im Skeletsystem sich abspielenden Vorgänge in einer primären Störung des P-Haushaltes zu erblicken, dem in zweiter Linie erst sekundär Störung im Ca-Stoffwechsel und damit die Entkalkung der Knochen folgt, in gleicher Weise wie bei der menschlichen Rachitis. Es liess sich nun bei den Tieren, die unter der chronischen Thalliumwirkung im Wachstum zurückblieben, durch Verabreichung von A T 10 diese wachtumshemmende Wirkung des Thalliums aufheben. Hieraus müssen wir mit grosser Wahrscheinlichkeit schliessen, dass tatsächlich das Thallium auch die Nebenschilddrüsen, die ja bei dem Knochenwachstum eine grosse Rolle spielen, in ungünstigem Sinne beeinflusst und dass dan das AT.10 die Funktion der Nebenschilddrüse wieder fördert, ähnlich wie bei der Tetanie und der Tetaniekatarakt. Allerdings wissen wir, dass das Knochenwachstum auch durch die Hypophyse, durch die Thyreoidea, den Thymus und die Sexualorgane beeinflusst wird, und wir haben ja in zahlreichen Arbeiten hervorgehoben, dass alle diese Organe durch chronische Thallium-Applikation in ihrer Funktion herabgesetzt werden. Es muss deshalbsb weiteren Untersuchungen, sowohl Stoffwechsel wie histologischen Untersuchungen vorbehalten bleiben, tiefer in diesen interessanten und vielleicht auch praktisch nicht unwichtigen Prozess der Beziehungen zwischen Thallium und A T 10 einzudringen. Da wir zur Zeit nicht in der Lage sind, diese Untersuchungen fortzusetzen, möchten wir zur Fortsetzung dieser Versuche die Anregung geben.

In gleicher Weise wie am Knochensystem wurde auch eine die Verkalkung betreffende Veränderung im Dentin und Wachstums-Hemmung der Zähne bei Thallium-Ratten beobachtet (zusammen mit Professor WALKHOFF). Nach SHICHIWO URABE stören hohe Dosen das Zahnwachstum, während kleine fördernd wirken.

Die zu Beginn unserer experimentellen Untersuchungen gefundenen Magen-Veränderungen bei Ratten stellen einen entzündlich-proliferatieven Prozess der Vormagen-Schleimhaut dar, der mit seinen ausgedehnten Verhornungen, seinen Zapfen-und Epithelcysten Bildungen, sowie den papillomatösen Wucherungen einen epithelial-tumorartigen Charakter aufweist. Es fand sich hier eine gewisse Analogie zu den FIBIGER'schen Resultaten bei Spiroptera-Erkrankung. Die Prüfung mit Kongopapier ergab eine starke Herabsetzung bezw. vollständiges Fellen der freien HCl (was wir auch bei mit Thallium behandelten Kindern beobachtet haben). Auch die Mengenbestimmung des Adrenalin-Gehaltes der Nebenieren bei mit Thallium gefütterten Meerschweinchen liess eine starke Herabsetzung, in einige Fällen sogar einen völligen Ausfall des Adrenalins neben Mangel an Lipoiden in der Nebennierenrinde erkennen. Bei Todesfällen fand sich völliger Lipoidmangel der Nebennierenrinde. Intravenöse Thallium-Injektion bewirkte nach KORJANAGI beim Kaninchen eine Senkung des Blutdrucks. Dagegen konnte LANGSTEINER in mehreren von ihm beobachteten Fällen von Thallium-Vergiftung beim Menschen regelmässig eine Steigerung des Blutdrucks im akuten Stadium feststellen, der bei Besserung

der klinischen Erscheinungen zur Norm zurückkehrte. Bei wiederholter subkutaner Darreichung des Thalliums wurde ebenfalls von Korjanagi eine Steigerung des Blut-Cholesteringehaltes beobachtet, und zwar am intensivsten bei Eintritt des Haarausfalls. Die gleiche Veränderung sahen wir auch bei Thallium-behandelten Kindern. Dagegen zeigte der Kalziumgehalt des Blutes meist eine Senkung verschiednen Grades. Ausserdem wurde eine mehr oder weniger starke Hypoglykämie festgestelt. Der hyperglykämische Erfolg des Adrenalins wurde bei den mit Thallium vergifteten Kaninchen abgeschwächt, was wir auch beobachtet haben. Kojima und Kioto fanden eine Steigerung der Oxydation und sahen diese Stoffwechselveränderung als Folge der Thalliumwirkung auf das vegetative Nervensystem an, wodurch verschiedene stoffwechsel-regeulatorische endokrine Apparate in Mitleidenschaft gezogen würden. Bei fortschreitender Vergiftung kam es zur Herabsetzung der Oxydationsvorgänge.

Die gleichen innersekretorischen Wirkungen des Thalliums kamen auch in unseren Versuchen an Kaulquappen zur Geltung, wobei es uns gelang ,sowohl auf das Wachstum als auch auf die Metamorphose mit Thallium einen hemmenden Einfluss auszuüben, während Kombinations-Versuche mit Thymus und Thyreoidea dies in gewissem Grad wieder ausgleichen konnten. Dieselben Gesichtspunkte, dass den durch Thallium hervorgerufenen Veränderungen Störungen im sympathisch-endokrinen System zugrunde liegen, waren auch für die gemeinsam mit Zondek und Berman ausgeführten Untersuchungen massgebend, wobei sich ergab, dass unter dem Einfluss des Thalliums der Brunstzyklus bei der weissen Maus derart gehemmt wurde, dass es während der Fütterung mit Thallium bei den meisten Tieren überhaupt nicht mehr zur Brunst kam. Auch diese Thalliumstörungen waren wie fast alle anderen reversibel, indem nach Aussetzen der Thalliumfütterung die Brunst wiederkehrte. Durch Zuführung von Ovarial-und Hypophysen-Vorderlappen-Extrakten gelang es, die Wirkung des Thalliums auf den Ovarialzyklus aufzuheben, jedoch war diese dem Thallium entgegenwirkende Beeinflussung der östrogenen Funktion nur eine vorübergehende, indem nach Aussetzen der Hypophysen-Vorderlappen-Zufuhr bezw. der Zufuhr von Schwangeren-Urin als auch Prolan A, wie die gemeinsamen Untersuchungen mit Bickel ergaben, der hemmende Einfluss des Thalliums auf den Scheidenzyklus wieder zutrage trat. In Übereinstimmung hiermit stehen, die Beobachtungen, nach denen es bei der akuten Thalliumvergiftung des Menschen zum Sistieren der Menstruation gekommen ist, was ebenfalls nur eine vorübergehende Erscheinung war.

Erwähnt sei eine neuere Untersuchung von Böhm, nach den in der Haut von durch Thallium enthaarten Tieren eine sympathico-tonische Substanz-nicht Adrenalin-ausgeschieden wird. Er denkt an Acetylcholin, was auch für die nervös-endokrine Genese der Alopecie spräche. Eine gewisse Beeinflussung der Thallium-Enthaarung durch Hormone bei Ratten konnte, wie wir es bereits in unseren Versuchen festgesteltt hatten, v Brede beobachten, der bei Zufügung von Schilddrüse bezw. Epithelkörperchen eine mässig beschleunigende Wirkung auf die Thallium-Alopecie sah, die bei Verbindung mit Thymus-Extrakt besonders ausgesprochen war. Auch war die Sterblichkeit der Tiere bei der Thymus-Thalliumkombination eine viel geringere als bei den reinen Thalliumtieren bezw. den mit Thallium und anderen Hormonen behandelten. Demnach scheint die epilierende Wirkung des Thalliums bei Vorhandesein und mit Hilfe von Thymushormon leichter zur Geltung zu gelangen. So fanden auch Pelizioni und Obydenow bei Hyperthyreose den stärksten Haarsausfall, was letzterer auch experimentell im Kaninchenversuch durch Zugabe von Thyreoidea bestätigt fand, indem Thyreoidea die Thalliumwirkung verstärkt, bezw. die Reizschwelle des Gewebes für Alopecie durch Thallium herabsetzt. In Gegensatz dazu sah Cooper Zulak keine unterschiedliche Wirkung bei thyreoektomierten

Ratten, weder was die Giftigkeit noch das Haarkleid betrifft. Jedoch scheint die Art der Ernährung sowohl bezüglich der Toxizität wie auch der pilotropen Wirkung des Thalliums eine gewisse Rolle zu spielen. So konnte Levkovich bei Schafen, die er hungern liess,eine Verstärkung des Mauserungs-Effektes nach Thalliumfütterung und eine erhöhte allgemeine Giftwirkung feststellen. Ebenso hat Hoffmann einen Einfluss der Diät bei mit Thallium gefütterten Schafen gesehen. So war die Toxizität bei frischem Futter eine viel geringere, als wenn die Tiere mit Trockenfutter (Heu) gefüttert worden waren, das gleiche traf auch für die alopecische Wirkung des Thalliums zu, sodass die Tierre, die mit frischem Futter (Steppengras) gefüttert wurden, besser auf die Thalliumzufuhr ansprachen. Der Autor betont in seiner Abhandlung, dass auch bei der klinischen Thallium-behandlung der Kinder auf die Diät besonders zu achten sei.

Bezüglich der Verwendung des Thalliums als Depilatorium bei Haarpilz-Erkrankungen der Kinder finden sich bis in die letste Zeit bestätigende Arbeiten über gute Erfolge, wobei immer wieder auf die exakte Verwendung des Mittels und die richtige Auswahl des Materials hingewiesen wird, um die gefürchteten Schädigungen zu vermeiden. Bei der geringen therapeutischen Breite der Thallium-Medikation ist dringend von einer Erhöhung der gebraüchlichen Dosis von 8 mg pro kg Körpergewicht abzuraten, ebenso halten wir ein Herabgehen unter diese therapeutische Dosis (abgesehen bei ganz jungen Kindern) für nicht angebracht, da dies zu leicht zu Misserfolgen führen würde und daann eine eventuell nochmalige, wenn auch entsprechend niedrigere Thalliumgabe, wegen der kumulativen Wirkung die grössten Gefahren in sich schliesst Es kan nicht dringend genug vor einer solchen fraktionierten Behandlung gewarnt werden, als deren Folge eine ganze Zahl schwerer Vergiftungen, ja sogar von Todesfällen anzusehen sind. Bezüglich der genaueren Methodik, der Nebenwirkungen, Geschichte (Cicero, Urueña, Buschke u.a.), der kombinierten Röntgen-Thalliumsapplikation etc. siehe unsere Zusammenstellungen i/d. Literatur.

Man hat versucht, aus der grossen Zahl der Thallium verbindungen die am wenigsten giftigen für die therapeutische Verwendung zu bevorzugen. Nach den Mitteilungen von Navaro sind die Salicylat-, Benzoat- und Tartrat-Verbindungen des Thalliums giftiger jedoch ist ihre therapeutische Breite grösser. Am giftigsten erwies sich das Thalliumtartrat. Bei Kindern wurde Tartrat 0,007-0,012, Benzoat 0,008-0,01, Salicylat 0,007-0,01 pro kg Körpergewicht mit gutem Erfolg angewandt. Nach seinen Erfahrungen kann jedes dieser Präparate das Thallium aceticum ersetzen. Auch nach Martinez wurden Thallium-salicylat, benzoat und citrat am besten vertragen. Ihre Wirksamkeit war ebenso gut wie bei den giftigeren Salzen. Pelizioni hält das Salicylat für am wenigsten toxisch, ebenso Peli und Benijetti, die das Salicylat sowie das Carbonat für weniger toxisch als das Acetat ansehen, für noch stärker giftig das Sulfat und Nitrat. Nach Hoffmann hängt die Epilations -und toxische Wirkung von der Menge, nicht von der Konstitution des Salzes ab, wobei sich ihm das Acetat am günstigen erwiesen hat. Auch die von uns in Gemeinschaft mit Professor Rosenheim angestellten Untersuchungen einer Anzahl komplexer Thallium-Verbindungen, ergaben, dass dieselben nach ihrem Thalliumgehalt wirkten. Demnach besteht kein Grund, von der ursprünglichen Verwendung des Thallium-Acetat (Thallium aceticum oxydulatum) abzugehen. Zur praktischen Durchführung der Behandlung eignen sich vortrefflich die von der Fa. Schering-Kahlbaum hergestellten Thallium-Tabletten mit 0,1, 0.01 und 0,001 g Gehalt an Thallium-Acetat; sie ermöglichen bequeme und genaue Dosierung ohne Inanspruchnahme eine Apotheker-Waage. Das betreffende Kind wird nüchtern nackt gewogen und erhält dann e i n m a l i g die einer Menge von 8 mg je kg Körpergewicht entsprechende Anzahl von Tabletten in Zucker-

wasser gelöst. Nach iungefähr einer Woche beginnen dann die Kopfhaare auszufallen, am 16.-20. Tage ist die Enthaarung gewöhnlich vollständig. Besonders widerstandsfähig verhält sich ein schmaller Streifen an der Stirngrenze und ferner, wie bereits erwähnt, der innere Teil der Augenbrauen. Im allgemeinen beteiligen sich Augenbrauen und sonstige Körperhaare nur wenig und selten am Haar-ausfall; Lanugohaare verhalten sich volkommen refraktär. Die Regeneration beginnt bereits nach drei bis vier Wochen, und zwar zeigt sich erst noch ein dünnes und farbloses Haarkleid, nach zwei bis drei Monaten ist aber die Behaarung wieder eine recht gute und vollständige. Niemals bleiben irgendwelche Schädigungen des Haarkleides oder gar Haarverlust zurück. Nach Truffi tritt eine viel schnellere Erholung der Haarpapille ein als nach Röntgen-Epilation, die, wenn man die Literatur überblickt, teilweise durch das Thallium verdrängt ist, zumal in der letzten Zeit durch genaue Beobachtung aller Vorschriften kaum noch schwerere Störungen zur Beobachtung gekommen sind. Ihr Vorteil vor der Röntgenmethode ist ihre technische Einfachheit, was besonders bei Pilzepidemien von grosser Bedeutung sein kann, ferner die Tatsache, dass niemals Schädigungen am Haarkleid zurückbleiben, und schliesslich die Möglichkeit, mit der antiseptischen Therapie vom ersten Tage ab beginnen zu können, während bei der Röntgen-Enthaarung die desinfizierende Behandlung erst nach Abklingen der Röntgenwirkung einsetzen kann, andernfalls leicht Hautschädigungen vorkommen Ausserdem scheint nach neueren Untersuchungen nicht, wie bei der Röntgenbehandlung, der epilatorische Effeckt des Thalliums das allein Wirksame in der Behandlung der Haarpilz-Erkrankungen zu sein, sondern möglicherweise übt es durch Nährboden-Verschlechterung einen gewissen schädigenden Einfluss auf die Pilze aus. So liegen auch aus neuerer Zeit Beobachtungen vor, wo die alleinnige Verwendung des Thalliums ohne desinfizierende lokale Begleitbehandlung zur Heilung der Pilz-Erkrankungen geführt hat. Liebermann sah auch Erfolge bei pilzkranken Kindern durch lokale Anwendung von wässrigen Thalliumlösungen in Verbindung mit Kollodium auf den erkrankten Herden. Nach zwei Wochen konnten die Haare leicht und schmerzlos entfernt werden, worauf noch eine antiparasitäre Behandlung folgte. Neuerdings wird diese Behandlung auch von Tschernogubow, aber mit wechselndem Erfolg, empfohlen. Unsere früheren Versuche in dieser Richtung ergaben kein einwandfreie Resultat.

Dagegen wurden gemeinsam mit Kohnheim Untersuchungen über das künstliche Wachstum von Pilzen bei Zusatz von Thallium angestellt, in gleicher Weise wie dies auch bei Bakterien und phanerogamen Pfanzen geschehen war. Während letztere selbst bei starken Verdünnungen, wie 1 : 1000.000, schwere Wachtums Schädigungen aufwiesen, waren die Befunde bei Bakterien sehr verschieden. Die zusammen mit Rosel Goldschmidt und Kornheim ausgefuhrten Untersuchungen wurden mit Thallium aceticum, Thallium carbonicum, Thalliumnitrat und Thalliumrhodanür gemacht. Untersucht wurden Colibazillen, Proteus, Hühner-Cholera, Pneumobazillus Friedländer, Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken, Gonokokken, Diphterie-Bazillus Typus gravis, intermedius und mitis. Die Hemmungswirking war gegenüber gramnegativen Bakterien sehr gering. Nur das Thalliumnitrat hat Colibazillen und das Thallium-Acetat Hühner-Cholera-Bakterien in der Verdünnung 1 : 2000 bezw. 1 : 500 beeinflusst. Thalliumkarbonat hat Colibakterien selbst in hoher Konzentration nicht an der Vermehrung gehindert. Dass dennoch eine Wechselwirkung zwischen Bakterienzelle und Thalliumbverbindung stattgefunden hatte, zeigte sich bei der mikroskopischen Untersuchung der Bakterien, die dem Einfluss der Metallsalze ausgesetzt waren. Sie hatten sich in ihrer Morphologie völlig verändert. So waren die schlanken Colibakterien unter dem Einfluss einer 1 pro mill. Thallium-Acetat-lösung zu dicken plumpen kokkenförmigen Gebilden umgestaltet. In

der Verdünnung 1 : 5000 waren dicke Stäbchen mit abgerundeten Enden zu finden. Die gleichen Involutionsformen hatten sich unter dem Einfluss der starken Konzentration von Thallium-Karbonat entwickelt. Auch der Pneumobazillus Friedländer war unter der Wirkung des Thallium-Acetats zu einem Kokkus geworden. Ausserdem hatte sich das dicke Flocken-sediment, in dem dieser Keim in flüssigen Nährmedien zu wachsen pflegt, bräunlich verfärbt. Vermutlich wird das Metall aus seiner Verbindung frei und in fein verteilter Form in oder auf der Bakterienzelle fixiert. Auch gegenüber den grampositieven Kokken, Staphylokokkus aureus, Streptokokkus longus und Pneumokokken haben die Thalliumsalze im Hemmungsversuch versagt. Der Gonokokkus ist vom Thalliumnitrat in der Verdünnung 1 : 2000 gehemmt worden.

Ganz anders war die Wirkung gegenüber den Diphtherie-Bazillen, wobei sich die bemerkenswerte Tatsache ergab, dass sich die verschiedenen Typen dieses Keims dem gleichen Salz gegenüber verschieden verhielten. So zeigten sich das Thallium-Acetat und Thallium-Karbonat gegenüber Typ gravis und intermedius in der Verdünnung 1 : 20000 wirksam, während der Typus mitis selbst in der Verdünnung 1 : 500 unbeeinflusst blieb. Thallium nitricum und Thalliumrhodanür waren imstande, auch diesen Typ in Stärkeren Verdünnungen 1 : 10000 bezw. 1 : 2000 an der Vermehrung zu hindern. Wenn auch die Wirkung der Thalliumsalze gegenüber Diptherie-Bazillen im Vergleich zu der bei Kokken und gramnegativen Stäbchen eine gute ist, so reicht sie doch nicht an die anderer bekannter Desinfektionsmittel heran, die selbst in hundertfach stärkerer Verdünnung noch wirksam gefunden werden.

Was nun die Untersuchungen über das Wachstum verschiedener Pilzarten bei Zusatz von Thallium aceticum zu dem Nährboden (Bierwürze-Agar) betrifft, so ergab sich wie nachstehende Tabelle zeigt, folgendes Resultat:

Wachstum der Pilze auf Bierwürze-gar nach Zusatz von Thallium aceticum in verschiedener Konzentration.

Pilzart	1:1000	1:10.000	1:100.000	1:1000.000	1:10.000.000	Kontolle
Aspergillus niger	schwach	mässig	dicht	dicht	dicht	dicht
Mucor-mucedo	kein	schwach	mässig	dicht	dicht	dicht
Achorion gipseum	kein	kein	dicht	dicht	dicht	dicht
Epidermophyt. Kaufmann-Wolf.	kein	kein	dicht	dicht	dicht	dicht
Mikrosporon minutissimum	kein	kein	dicht	dicht	dicht	dicht

In einer Verdünning von 1 : 1000 wirkte demnach Thallium acceticum auf alle untersuchten Pilzarten wachstumshemmend. Aspergillus niger zeigte dabei noch ein schwaches Wachstum, während Mukor, *Achorion gipseum*, *Epidermorphyton* Kaufmann-Wolf und *Microsporon minutissimum* bei dieser Konzentration überhaupt kein Wachstum aufwiesen. Auch eine Konzentration von 1 : 10.000 reichte bei den drei letzten Pilzarten aus, um das Wachstum vollständig zu hemmen, während *Aspergillus niger*

und Mukor schwaches Wachstum dabei zeigte, noch stärkere Verdünnungen erwiesen sich für alle untersuchten Pilzarten als wirkungslos. Aus diesen Untersuchungen ist wohl die Schlussfolgerung berechtigt, dass das Thallium zwar in stärkerer Konzentration das Pilzwachstum hemmt, dass aber eine klinische Bedeutung daraus nicht abzuleiten ist, Die geringen Thalliummengen, die bei der therapeutischen Thallium-Darreichung in den Organen, besonders in der Haut, sich vorfinden, können für irgendwelche Einwirkung auf die Pilze garnicht in Frage kommen. Eine lokale Anwendung des Thalliums auf die erkrankten Partien war aber abgesehen von den Gefahren einer Vergiftung schon darum abzulehnen, weil wir harmlosere und stärker desinfizierende Mittel besitzen, die sich viel mehr für eine lokale Behandlung eignen. Die Gefahren und die Unzweckmässigkeit einer lokalen Behandlung von Pilz-Erkrankungen mit Thalliumsalben hatte bereits Sabouraud (1910) erkannt und diese Behandlungsart bald aufgegeben. Auch spätere Forscher warnen vor der lokalen Thalliumbehandlung, da sie abgesehen von dem schlechten therapeutischen Erfolg sehr leicht zu schweren Vergiftungs-Erscheinungen führt. Erinnert sei dabei noch an die von amerikanischen Ärtzten beobachteten schweren Störungen nach Verwendung des Thallium enthaltenden Koremlu Cream', der als Enthaarungsmittel einige Zeit im Handel war.

Wir sehen daraus, dass das Thallium, das sich als perorales Enthaarungsmittel bereits weit verbreiteter Wertschätzung erfreut, wegen seiner starken Giftigkeit nur mit äusserster Vorsicht therapeutische Verwendung finden kann. Inwieweit bei den interessanten, vielseitigen Wirkungen des Thalliums auf den Organismus sich nicht noch weitere Anwendungsmöglichkeiten des Mittels in der Medizin ergeben, muss weiteren Forschungen vorbehalten bleiben. Hierzu wiederum eine Anregung zu geben, ist der wesentlichste Zweck dieser Ausführungen gewesen.

Literatur

(1) Buschke A. und B. Peiser: 'Die biologischen Wirkungen und die praktische Bedeutung des Thalliums' in Ergebnisse der Allgemeinen Pathologie und Pathologischen Anatomie des Menschen und der Tiere, herausgegeben v. Lubarsch, Ostertag und Frei, 25. 1—57 München (1931). (2) Buschke A. B. Peiser: Über die biologischen Wirkungen und die praktisch-medizinische und soziale Bedeutung des Thalliums'. Dermatolog. Zeitschrift, Bd. 77, Heft 4 (1938). (3) Buschke A. und Konheim. A. T., Thallium, Schweizer med. Wochenschrift, 1939, No. 31.

Libri novi.

Couch, J. N., *The Genus* Septobasidium. Pag. IX—480, with 114 plates and 60 fig., in 8. The University of North Carolina Press, Chapel Hill, N.C, U.S.A. Bound $ 5.—.

This monograph is the result of twelve years of study on this genus, but it must remain for many decads the standard book on this subject, and nowadays a model of a world wide, comprehensive monographic treatment on a group of fungi. The table of content of the monograph will indicate the completeness of the treatment: The Fungus-Insect Relationship; Pathological Considerations and Control Methods; Geographical Distribution; Host Trees and Host Insects; Structural Features of Taxonomic Importance; Hybridization; Citology; Relationship; Generic Description; Key to Species; Description of Species (about 200 pages); Notes on Incompletely Known Species; Notes on Excluded Species; Literature List; Index.

This book is primarily, but by no means exclusively, designed for the taxonomist who is anxious in modern systematic treatment of genera including critical and confusely defined species, but it is interesting also for students in comparative mycopathology, plant pathology and entomology, as well as for student of general biology. The systematical and taxonomical work is easily resumed: about 175 species, mostly intertropical, with very detailed descriptions, and hundreds analytical illustrations based on very fine original drawings and excellent original photographs, the iconography being one of the outstanding features of this monograph. About 90 species redescribed "ex novo", mostly on type specimens and 72 species founded by the author, 55 being described for the first time, from specimens secured throughout all the world.

The biological interest of the fungi belonging to the genus *Septobasidium* is offered by the ternary system of symbiotic equilibrium host-plant-scale-insect-fungus, in part parasitic but in part mutualistic. The relationship are, therefore, of high complexity and quite variable; as a rule, the fungus and insect live together interdependently. The fungus furnishes a home and protection to scale insects; in return, the fungus is dispersed by the insect, and, up to a certain extent, nourished it, so that it appears to be a very weak parasite. But the colony may be also almost destroyed by the fungus, and the plant directly parasitized by *Septobasidium*. In the authors' monograph, although the point of view is in large part taxonomic, biological, mycogeographical and parasitological subjects are exhaustively and extensively represented, bringing a promising field for biological investigation to future students.

Botanical Institute, R. University of Florence. R. Ciferri.

Negroni, P., *Morfologia y biologia de los hongos.* Un vol. de pag. 312, en 8°, con numerosos dibujos y figuras. „El Ateneo", Buenos Aires, 1938.

El distinguido micólogo y bacteriólogo de la Universidad Nacional de La Plata, cuyo nombre encabeza estas lineas, ha realizado una obra verdaderamente meritoria en escribir este modernisimo manual de micologia general y técnica micológica medica.

El autor opina, bien fundadamente, que ningun empirismo es admitible, al dia de hoy, aún en quien de la micologia interesa la parte aplicativa. Es así que el volumen está encabezado por ocho capítulos dedicados a la morfología, a la citología y a la biología de los hongos. Los demás capitulos estan dedicados a la parte tecnica, que constituye, poco más o menos, otra mitad del tomo.

Las diferentes partes se refieren a los datos clínicos de la micologia medica, incluyendo la recolección del material, el directo examen de esto y su siembra. Otro párrafos están dedicados a la obtención de cultivos puros y al desarollo de los hongos. Los demás párrafos tratan de la técnica citologica y microscopicas, de la coloración y de los metodos especiales para el estudio bioquímico y fisiologico de los hongos. Aún las técnicas peculiares de unos grupos funginos y de buscas especiales útiles para microbiologos del suelo y parasitologos de las plantas estan descritas.

Esta obra, muy al día en todas partes, constituye no solamente un excelente trabajo

de recopilación, sino una selección de hechos y de técnicas que reflejan una profunda experiencia personal. Esto es decir que el manual representa un valioso guía para aquellos que no están todavia iniciado al estudio de los hongos y un otro tanto útil repertorio para microbiologos generales.

Instituto de Anatomia Patologica de la Universidad de Pavia.

P. Redaelli.

Smith, G. M., *Cryptogamic Botany.* Vol. I. *Algae and Fungi.* Vol. pagg. 545, ill. I ed. in 12. London (McGraw-Hill Publishing Co., Ltd.) 1938. Bound. 24 sc.

This book is designed for advanced students, and "it is written from the standpoint that a thorough knowledge of a representative series in each of the major groups is better than scraps of information about a large number". The possible danger of a full identification of groups with the selected "types" has been avoided with the introductory discussion to classes, orders and families.

The section devoted to the study of fungi includes about 150 pages, not to mention the space dedicated to the Myxothallophyta (or Mycetozoa) and to the Lichenes. A comprehensive bibliography (including about 10 pages) is appended to each chapter.

Author and publishers are to be congratulated upon producing a most careful selected book, which will rank immediately as one of the foremost standard works on Cryptogamic botany, and it may without hesitation be recommanded as an up to-date text-book for advanced students, as well as a summary of existing information as to the Cryptogamic botany.

Botanical Institute of the R. University of Florence. R. Ciferri.

Bibliographia Mycopathologica III

(1938)

Aberastury M., Onicomicose generalizada. Sem. méd., Buenos Aires, *45*, (2317), 1316—1318, 2 figs. (1938). [*Monilia albicans*].

Argenziano G., Favo primitivo del braccio. Rif. Med., *54*, (18), 696—700, 1 fig., (1938). [*Achorion Schönleini*].

Baker R. D., Comparison of infection of mice by mycelial and yeast forms of *Blastomyces dermatitidis*. J. infect. dis., *63*, (3), 324—329, 5 figs., (1938).

Berberian D. A., Mycologic technic for the study of anascosporous yeast-like fungi. Arch. Dermat. Syphil., Chicago, *38*, (4), 526—534, 3 figs., (1938).

Böhmer K., Soor des Magens. Deutsch. Z. gerichtl. Med., *30*, (4), 143, (1938).

Bordonaro F., Micosi sperimentali da specie del genere *Glenospora*. Riv. di Patol. Sperim., *21*, (5—6), 289—335, 13 figs., (1938). [*G. Gammeli, G. Graphi, G. brevis, G. lanuginosa, Glenosporella dermatitidis*].

Carol W. L. L., Cremer G., van Haren H. B., und Bloemen J. J., Ein Fall von Mycotorulosis generalisata. Arch. Dermat. Syphil., Berlin, *178*, (2), 177—187, 6 figs., (1938). [*Mycotorula albicans*].

Castellani, A., Mycotic pruritus ani: a short general account. J. Trop. Med. a. Hyg., December 1, (1938). [*Trichophyton, Monilia*].

Castellino P. G., Exematidi figurate in rapporto al *Microsporon furfur*, Rif. Med., *54*, (17), 653—656, 2 figs., (1938).

Catanei A., L'allergie teigneuse chez le cobaye et les variations des leucocytes dans la teigne experimentale. Arch. Inst. Pasteur, Algér, *16* (1), 21—25, (1938).

Catanei A., La flore parasitaire des mycoses de l'homme en Algérie. Arch. Inst. Pasteur, Algér, *16*, (1), 18—20, (1938).

Charles V. K., A new entomogenous fungus on the Corn earworm, *Heliothis obsoleta*. Phytopathology, *28*, (12), 893—897, 3 figs., (1938).

Comandon J. et de Fonbrune P., Recherches expérimentales sur les champignons predateurs des Nematodes du sol. Conditions de formation des organes de capture. Les pièges garotteurs. Les gluaux ou pièges collants. C. R. Soc. de Biol., Paris, *129*, (3), 619—625, (1938). [*Dactylaria brochopaga, Dactylella bembicodes, D. ellipsospora, Arthrobotrys oligospora, Stylopage hadra*].

Coppolino A., Psoriasi e dermatosi parassitarie. Sez. Sicula Soc. Ital. di Dermat. e Sifil., Dicembre (1938). [*Cryptococcus sp.*].

Croft C. C. and Black L. A., Biochemical and morphologic methods for the isolation and identification of yeastlike fungi. J. Lab. clin. Med., *23* (12), 1248—1258, (1938). [*Monilia albicans*].

Del Vecchio P., Un caso di streptotricosi del polmone. Ann. Med. Nav. Colon., *54*, (3—4), (1938).

Donati G. S., Sopra la genesi micosica della calcolosi salivare. Att. e Mem. Soc. Lombarda di Med., Milano, *6*, (2), (1938).

Emmons C. W., The isolation of *Actinomyces bovis* from tonsillar granules. Reprint N. 2000 from the Public Health Reports, *53*, (44), 1967—1975, (1938).

Epstein N. N. and Lewis E. A., Favus infection. Report of a case from California. Urol. cutan. Rev., *42* (7), 515—517, 4 figs., (1938).

Frankfeldt F. M., Mycotic pruritus ani. Bronx Hospital Clinical Society, (1938).

Gammel J. A. and Work J. L., Sycosis parasitica due to *Favotrichophyton album* var. *singulare*. Arch. Dermat. Syphil., Chicago, *38*, (5), 756—772, (1938).

Goodey T., Observations on the destruction of the stem Eelworm, *Anguillulina dipsaci*, by the fungs *Arthrobotrys oligospora* Fres. J. Helminth., *16*, (3) 159—164, 4 pl., (1938).

Greenfield, Martin and Moore, Durch *Cryptococcus meningitidis* (*Torula histolytica*) verursachte Meningoencephalitis. Lancet, *235*, 1154, (1938).

Grigoraki L. et David R., Complément à l'étude des caractères biochimiques de *Trichophyton crateriforme* et *Achorion violaceum*. C. R. Soc. Biol., Paris, *129*, 647—649, (1938).

Jorge J., Browne A. e Eloy Mealla, Trattamento dell'actinomicosi cervico-facciale. Bol. y Trabajos Soc. Cirurgia de Buenos Aires, (29), (1938).

Kambayashi T., Ueber eine neue Varietät von *Scopulariopsis blochi* als Erreger einer Dermatomycose. Bot. Mag., Tokyo, *52*, (624) 635—641, 3 figs., (1938).

Kettler L. H., Eine eigenartige durch Streptotricheen bedingte Erkrankung der Pulmonararterie. Z. Kreislaufforsch., *30*, 680, (1938).

Kurotchkin T. I., The value of Gram stain for differentiation of pathogenic fungi. Chin. med. J., suppl. 2, 337—341, (1938).

Langeron M. et Guerra P., Nouvelles recherches de zymologie médicale. Ann. Parasit. hum. et Comp., *16*, (5), 429—473; (6), 481—525, (1938).

Lewis G. N., Mackee G. M., and Hopper M. E., The trichophytin test: its value as a diagnostic aid. Arch. Dermat. Syphil., Chicago, *38*, (713), (1938).

Mackee G. M. and Lewis G. M., Dandruff and Seborrhea, I: Flora of „normal" and diseased scalps. J. invest. Dermat., *1*, (2), 131—139, (1938). [*Pityrosporon ovale*].

Mecca M., Micosi sperimentali del cristallino. Ann. Oftalm. Clin. Ocul., *66*, (7), 481—499, (1938).

Modén C., Further studies in the *Actinomyces*-like granules by chronic tonsillitis with special regard to their content of gram-positive thread-like, branched microbes. Svensk Tandläkaretidschrif, 14, (1938).

Molinengo L., Antinomicosi primitiva della mammella in gravidanza. La Ginecologia, *4*, (10), (1938).

Montgomery R. M. ,Hopper M. E., and Lewis G. M., Favus involving a toe nail. Arch. Dermat. Syphil., Chicago, *38*, (6), 856—858, (1938). [*Achorion Schönleini*].

Moore M., Trichomycosis axillaris nigra. Report of a case. Brith. J. Dermat., *50*, (12), 659, (1938).

Moore M., Kerion of the beard caused by *Ectotrichophyton mentagrophytes* var. *radiolatum*. Brith. J. Dermat., *50*, (12), 653, (1938).

Mumme C. und Lippelt H., Zur Pathogenität der Blastomyzeten. Z. klin. Med., *135*, (2), 187, (1938).

Negroni P., Estudio micológico del premier caso argentino de Histoplasmosis. Folia biologica, N. 90—91—92—93, 390—391, (1938). [*Histoplasma capsulatum*].

Negroni, P., Citologia del *Actinomyces israeli* (Kruse 1896). Rev. Instit. Bacteriol., Buenos Aires, (D. N. H.), *8*, (3), 331—336, 2 tav., (1938).

Negroni P., Basombrio G. y Bonfiglioli H., A proposito del éstudio de las blastomicosis en la Argentina. La Semana medica, p. 820, 6 octobre (1938).

Negroni P. y della Loizaga, Accion „in vitro" de los colorantes sobra la morfologia y biologia de *Mycotorula albicans*. Rev. Argent. de Dermatosifil., *22*, 4° parte, 655—561, (1938).

Parini A., Attinomicosi primitiva del cieco con attinomicosi metastatica del fegato. Arch. Ital. di Chirurg., *46*, (1938).

Perrone P., Micosi delle tonsille da *Cryptococcus pinoyisimilis*. Pathologica, *30*, (560), 241, (1938).

Pigorini L., Sopra l'actinomicosi della regione cecale. La Radiol. Med., (5), (1938).

Pratt H. N., Seasonal aspects of Asthma and Hay Fever in New England, with special reference to sensitivity to mold spores. New England Med. J., *219*, 782, (1938).

Rossetti S., Un caso di blastomicosi (*Mycotorula Pinoyi*) a manifestazione prevalentemente polmonare. Soc. Med. Chir. Bresciana (Brescia, Italia), 6 dicembre (1938).

Sartory A., Bareis Ch., et Meyer J., Sur un cas de septicémie généralisée due à un *Actinomyces* du type „*bovis*" Harz, chez un jeune veau. Boll. Acad. Méd., Paris, *120*, (38), 765, (1938).

Seaver F. J., Fungi of the human ear. Mycologia, *30*, (6), 692—694, (1938) [*Aspergillus nigricans*].

Silbergleit W. H. et P. Redaelli, Colite algine par *Oscillatoria enterica* n. sp. ad interim, chez un singe (*Cynocephalus hamadriadis*) Boll. Sez. Ital. Soc. Intern. di Microbiol., *10*, (12), 284—286, (1938).

Stevenin G., Étude sur les teignes animales. Thèse Ec. nat. Vét. Alfort, 140 pp., (1938). [*Trichophyton, Microsporon*].

Stewart R. A. and Meyer K. F., Studies in the metabolism of *Coccidioides immitis* (Stiles) J. infect. dis., *63*, (2), 196—205, 2 graph., (1938).

Zündel W., Die europäischen Epidermophytonpilze. Arch. f. Dermat., *179*, (1), 1, (1938).

Singolare reperto di *Sporotrichum Beurmanni* e di *Mycobacterium tuberculosis* in affezione nodulo-gommosa dell'arto superiore

per il

Luigi Semmola.

(*Clinica dermosifilopatica della R. Università di Firenze*)

(1.VII.1939.)

La presente osservazione riguarda una giovine infermiera la quale, essendo in servizio al Sanatorio di Careggi (Firenze) si ferí alla faccia palmare del quinto dito della mano sinistra con il collo scheggiato di una bottiglia alla quale aveva bevuto una paziente affetta da tisi polmonare. Con inizio nella sede del trauma, insorse una affezione di tipo nodulo-gommoso, che, seguendo le vie linfatiche, si propagò lentamente prima al 4° dito, poi al 1° dito, poi al palmo della mano ed infine all'avambraccio con evidente risentimento delle vie linfatiche (linfangite a rosario con adenite ascellare).

Le gomme della mano si aprirono spontaneamente, una dell'avambraccio fu incisa; in tutte susseguirono ulcerazioni torpide a bordi irregolari e sottominati. Dal fondo di due di queste emerse una vegetazione papillomatosa.

Con semine praticate in terreno di Sabouraud e in terreno di Petragnani di pus prelevato per puntura asettica da un focolaio gommoso chiuso (quando la forma morbosa datava da più di un anno) si sono ottenute colture pure di *Sporotrichum Beurmanni* e di *Mycobacterium tuberculosis*. Lo stesso pus ha tubercolizzato le cavie. Il micete, la cui identificazione è stata confermata dal Prof. Ciferri, è stato studiato dettagliatamente nelle sue caratteristiche colturali e biologiche. Il ceppo di bacillo tubercolare è risultato molto virulento per le cavie; inoculato al coniglio e insemenzato in brodo glicerinato, si è rivelato di tipo umano.

La sporagglutinazione di Widal e Abrami per la sporotricosi è risultata positiva sino a $^1/_{200}$. Anche la deviazione del complemento con antigene sporotricosico è risultata positiva.

La forma morbosa è regredita soltanto sotto l'azione di un prolungato trattamento iodico „per os" (ioduro di potassio) accompagnato a trattamento locale con soluzione iodo-iodurata.

Nell'associazione ifo-micobacterica descritta, originata in seguito al duplice innesto cutaneo di origine esterna dello *Sporotrichum Beurmanni* e del *Mycobacterium tuberculosis*, accanto a quest'ultimo il micete ha esplicato una attiva azione patogena come dimostrano da una parte l'efficacia esclusiva del trattamento iodurato e dall'altra la positività delle sieroreazioni, la quale dimostra altresí come siano state impegnate le difese umorali dell'organismo della paziente.

Sull' associazione sporotrico-tubercolare, intesa in senso stretto (presenza contemporanea dei due microrganismi nello stesso focolaio morboso), non descritta precedentemente in Italia, si trovano nella letteratura soltanto tre osservazioni di Autori francesi, le quali risalgono agli anni 1908 e 1909. Di queste, due sono relative a casi insorti spontaneamente nell'uomo (Spillmann e Gryer, Ann. Dermat. Syph., p. 576, 1908: Achard e

Ramond, Bull. et Mém. Soc. Hop., Paris, p. 735, 1909), e una terza riguarda una forma micobatterio-sporotricosica insorta in una scimmia inoculata sperimentalmente con *Sporotrichum* (De Beurmann, Gougerot e Vaucher, Bull. Mem. Soc. Méd. des Hop, Paris, p. 788, 1909). In questi casi ed in quello da me descritto si tratta di lesioni alla produzione delle quali hanno concorso le azioni patogene dei due microrganismi. L'associazione di essi, però, date le differenze dell' „habitat" e delle attitudini morbigene e l'eccezionalità del reperto contemporaneo nello stesso focolaio morboso, è di dubbia interpretazione sinergetica in rapporto alla genesi ed alla evoluzione dell'entità morbosa. Questa associazione ifo-micobacterica va d'altra parte, come è chiaro, nettamente distinta dalla semplice concomitanza nello stesso individuo di una infezione tubercolare e di una forma sporotricosica, evenienza relativamente frequente che si verifica quando un tubercolotico si contagia di sporotricosi (già tra i primi 13 casi di sporotricosi descritti da De Beurmann e Gougerot la tubercolosi era presente in quattro).

L'associazione patogena sporotrico-tubercolare si presta a considerazioni di ordine patogenetico (il processo tubercolare preparerebbe il terreno per l'attecchimento del micete); di ordine diagnostico (il reperto bacillare aggrava il pericolo che la sporotricosi rimanga indiagnosticata); di ordine terapeutico (intolleranza per l'iodio in rapporto a eventuale concomitanza di una tubercolosi viscerale; ioduro-resistenza del processo sporotrico-tubercolare).

L'allergia e l'immunitá nelle Micosi

1°: Concetti generali sull'allergia. Metodi diagnostici dell'allergia. Allergia e immunità nelle Actinomicosi e Actinobacillosi.

per il

Cesare Cavallero.

(*dall'Istituto di Anatomia ed Istologia patologica della R. Università di Pavia*)

(13.VIII.1939.)

Concetti generali sull'allergia

Lo scopo di questa mia fatica vuol essere quello di ricavare dallo studio clinico ed anatomico delle malattie fungine dell'uomo e degli animali, spontanee o provocate, quanto può risultare come espressione di movimenti allergici, sieno essi l'essenza della malattia, o solamente stati che ne giustificano la patogenesi o le alterne vicende evolutive.

Dirò subito che, come studioso di istologia e di anatomia patologica, il mio orientamento è stato prevalentemente morfologico, vale a dire ho cercato in ogni caso di rendere chiari quei fatti che corrispondessero all'equivalente morfologico degli stati e delle reazioni allergiche, con lo scopo anche di indagare ancora una volta se le modalità delle reazioni infiammatorie negli esseri viventi specificamente pretrattati fossero o potessero essere diverse, qualitativamente oltre che quantitativamente, dalle reazioni infiammatorie che cimentano le reattività naturali degli stessi esseri viventi nuovi.

Per tutto ciò io ho cercato di penetrare nei fenomeni morbosi delle micosi superficiali e profonde dell'uomo e degli animali, sfruttando i diversi mezzi di indagine, quella istopatologica innanzitutto, quella delle prove umorali, sierologiche e immunitarie in secondo luogo, mezzi che nel loro giusto significato biologico e diagnostico sono più avanti discussi.

Non posso innanzitutto non accennare brevemente ai concetti generali dell'allergia, o per lo meno a quei concetti ai quali io mi sono informato ed ai quali io mi attengo come a quelli che mi sembrano, almeno da un punto di vista teorico, i più rispondenti ai fenomeni clinici ed anatomici, spontanei o sperimentali, dedotti da mie osservazioni personali e dalla critica della vastissima letteratura sull'argomento, ancor oggi multiforme per procedure e conclusioni, contradditoria e confusa.

Per usare un'antica espressione, dirò che l'allergia è una „diatesi da anticorpi"; sono da considerarsi *stati allergici* (allergia) tutti gli stati caratterizzati dalla presenza di anticorpi; sono da considerarsi *processi allergici* tutti i processi nella cui genesi giuoca l'intervento di anticorpi. E' essenzialmente su questi presupposti che si basano i confini dell'allergia, confini quanto mai incerti, confusi e discussi che fanno sí, in linea molto generale, che ancor oggi non sia raggiunto un comune accordo sull'estensione del fenomeno. In ogni caso, per quello che si è detto sopra, l'allergia (come complesso di stati allergici e di processi allergici) deve esser considerata entro i confini della patologia rappresentata da *reattività modificata.*

Non che ogni reattività modificata rappresenti allergia: infatti esistono stati di reattività patologica congenita od acquisita non preparati che rientrano nel campo generico delle variazioni delle disposizioni individuali e che non si possono in ogni caso

considerare come allergia. Cosí l'allergia non può neppure abbracciare tutta la *patergia*, la quale comprenderebbe il complesso delle reattività modificate per preparazioni specifiche ed aspecifiche di carattere genericamente immunologico. Cosí non devrebbero esser considerate allergia le azioni „primarie" degli allergeni, certe modificazioni di reattività che non hanno carattere specifico, l'alterata disposizione alle reazioni infiammatorie per l'azione di diversissimi stimoli flogistici (*parallergia*), il fenomeno di Sanarelli-Schwarzmann, l'alterata reattività farmacodinamica e tossica di determinati organismi allergizzati, l'aumentata o diversa capacità reattiva o allergizzabilità verso altri allergeni (metallergia), ecc. ecc.

L'allergia, come una porzione specifica della patergia, dovrebbe comprendere solo quegli stati e quelle reazioni o processi che si basano sulla presenza e sulla mobilizzazione di anticorpi specifici o sostanze simili. Il possesso di anticorpi è lo *stato allergico*; la reazione al contatto coll'allergene primitivo visualizza lo stato allergico per mezzo, di solito, di un processo morboso.

Gli studi sulle manifestazioni istogene dell'allergia hanno avuto inizio con i primi ricercatori: furono però in seguito trascurate per un più fervido orientamento dei ricercatori verso i fenomeni clinici e verso quelli sierologici ed immunologici. I nomi, tuttavia, di Arthus, di von Pirquet ed altri non devono essere trascurati prima di arrivare a quello di Roessle e della sua Scuola, come di coloro che hanno cercato di fissare le basi dell'equivalente morfologico dell'allergia.

Ma è dal vario orientamento degli studiosi che si sono create due correnti di pensiero, tendenti l'una a vedere nel fenomeno un processo essenzialmente umorale, l'altra tendente a porre a base di esso delle reazioni esclusivamente od essenzialmente istogene. La soluzione di questi problemi presuppone la perfetta conoscenza degli intimi meccanismi delle difese istogene ed umorali, il complesso di quei meccanismi di difesa che fanno sí che l'ospite tende ad allontanare lo stimolo invadente; questa perfetta conoscenza ci manca quasi totalmente e le costruzioni che si elevano a spiegazione dei fenomeni, se pur sono spesso soddisfacenti e tranquillizzanti, tuttavia sono assolutamente teoriche. Io non posso entrare in merito a queste disquisizioni che mi porterebbero troppo lontano, anche perchè io non porto elementi tali da chiarire gli stessi problemi e mi limito, sulla base di convinzioni acquisite dallo studio di fatti direttamente osservati e dalla critica delle conoscenze sino ad ora acquisite, a fissare alcuni elementi che mi sembrano indispensabili per procedere nel nostro studio.

Sin dalle prime osservazioni sugli stati e le reazioni allergiche, cosiderando come fondamentalmente acquisito il concetto di Roessle che „l'infiammazione è una malattia del sistema mesenchimale (sistema reticolo-endoteliale o reticolo-istiocitario) la cui funzione patologicamente esagerata ha la tendenza a combattere e ad eliminare le sostanze estranee all'organismo", si parla, a proposito delle diverse reattività di organismi precedentemente preparati, di *infiammazioni anafilattiche* o meglio, dice Roulet nel suo studio sulle infiammazioni iperergiche, di *infiammazioni allergiche* o *ipererghiche* (sic). E' una tendenza che forse non è ancor del tutto scomparsa quella di identificare spesso l'allergia con uno stato iperergico e con una reazione iperergica. Io credo che ciò sia dipeso dal fatto che, tra tutti i fenomeni proprii della reattività modificata dei soggetti in stati allergici, sono apparsi evidenti soltanto i movimenti su base iperergica, mentre sono rimasti maggiormente nell'ombra, più difficili a comprendersi ed a spiegarsi, i movimenti di carattere inverso, proprii degli organismi ipersensibilizzati verso un dato antigene, ma incapaci di reagire anche con modalità proprie degli organismi normergici.

Mentre nei primi anni dopo la grande guerra si veniva precisando con Roessle e la

sua Scuola il concetto della patergia e dell'allergia (con particolare rilievo dell'allergia iperergica), si iniziavano tuttavia, sorti indipendentemente sulla base di altri rilievi e di diversi ragionamenti, i lavori che portavano Zironi a fondare il concetto della „ipersensibilità con iperrecettività", concetto che venne dall'autore particolarmente indirizzato per la spiegazione logica della patogenesi di molte malattie infettive e da infestione. Zironi non ha desistito di portare sempre maggiori contributi al problema interessantissimo, sia con il rilievo di molti fatti clinici come di molti fatti anatomici e sperimentali.

Ora mi sembra, salvo maggiori precisazioni e più intime interpretazioni che si vanno preparando anche nell'Istituto dove io lavoro ad opera di P. Redaelli sulla patogenesi e sulla morfologia patologica di malattie infettive studiate sull'uomo e sperimentalmente sugli animali, che lo studio degli stati e delle reazioni allergiche sia nelle loro manifestazioni più conclamatamente iperergiche secondo i più vecchi schemi di Arthus, di Koch e le più moderne di Roessle e dei suoi collaboratori ed allievi, sia nelle loro manifestazioni proprie agli stati di iperrecettività secondo Zironi, sia attraverso lo studio dell'anafilassi (e più della anafilassi locale che di quella generale rappresentata dallo choc), si possa fissare uno schema generale che, nei suoi fondamenti, non si discosta molto da quelli indicati anche recentemente da Roessle.

Il soggetto normergico che riceve una o più cariche di un allergene definito raggiunge, dopo un tempo più o meno lungo attraverso meccanismi oscuri, una sensibilizzazione specifica (*stato allergico*) la quale può tradursi, di fronte allo stesso allergene, in una reazione allergica (*stato morboso*). Tale reazione allergica può assumere due aspetti essenzialmente diversi ed opposti.

Nel primo caso, i tessuti mesenchimali dell'organismo (sistema reticolo-endoteliale od istiocitario) e gli umori da esso strettamente dipendenti ed influenzati, esprimono la loro sensibilizzazione con una reazione che ha delle finalità nettamente benefiche ai fini della difesa dell'organismo stesso, con l'annientamento, la segregazione, l'allontanamento dell'allergene: la reazione ha carattere nettamente iperergico (o pleoergica come la chiama v. Groer), la sua morfologia (è di essa che io intendo particolarmente interessarmi) mostra una grande prevalenza di tutti quei mezzi che tendono alle finalità suddette. Nella infiammazione iperergica prevalgono infatti i processi proliferativi reticolo-istiocitari con tendenza alla segregazione del focolaio in cui si è insediato l'antigene, che viene rapidamente decimato, annientato e distrutto. Le variazioni della reazione iperergica sono amplissime e vanno dai più piccoli tentativi di difesa istogena iperplastica fino alla inattività reattiva del tessuto colpito dall'antigene, inattività che esprime una insensibilità che può prendere il nome di *anergia positiva* e che corrisponde, grosso modo, alla *immunità*. In ogni caso mi piace di insistere che il carattere fondamentale della reazione allergica per essere iperergica è quello della finalità benefica a vantaggio dell'organismo ospite.

Ma non sempre gli equilibri istogeni ed umorali creati dall'allergene sensibilizzante portano all'allergia di valore iperergico. Altrove ad una sensibilizzazione specifica fa riscontro una reazione di risposta che à assolutamente incapace di raggiungere le finalità della difesa: in questo tipo di reazione, cui si conviene l'attributo di *ipoergica* (pleoestesia come la chiama v. Groer), il mesenchima, il sistema reticolo-istiocitario con i suoi mezzi istogeni ed umorali facilita, anzichè ostacolare, la marcia dell'antigene; la forma dell' infiammazione vede prevalere processi essudativi vascolari, disintegrazioni parenchimali, essudazioni fibrinose, necrosi, mentre alla deficienza dei processi proliferativi fa riscontro la moltiplicazione e la facile diffusione dell'antigene. L'estrema gravità di queste condizioni è rappresentata dalla insensibilità negativa, l'*anergia negativa*. L'allergia ipoergica e l'anergia negativa corrispondono ai diversi gradi di gravità della *iperrecettività* di Zironi.

E' indubitato che nella genesi di reazioni allergiche che rappresentano gli stati morbosi infettivi dell'uomo e degli animali, in altre parole nella patogenesi delle malattie infettive, gli equilibri allergici giocano in modo che uno stato di iperrecettività (allergia ipoergica) sembra essere indispensabile perchè la malattia si inizi e perchè la reazione allergica che la rappresenta si visualizzi. Nel decorso della malattia, alterne vicende di stati e di reazioni di iperergia e di ipoergia danno ragione dell' evoluzione della malattia nei diversi sensi.

Io ho creduto utile di accennare a questi concetti generali che informano l'indirizzo della Scuola cui appartengo, anche perchè in scritti ancora recenti, come ho già avuto occasione di dire, si tende ad assimilare l'allergia con una reazione iperergica ignorando l'altro orientamento dell'allergia, così come si vede scritto (Roulet ad es.) che la differenza tra le immagini infiammatorie riscontrate nelle varie affezioni morbose (l'A. si riferisce essenzialmente al reumatismo articolare acuto) con predominanza di infiammazioni produttive o di fenomeni essudativi e necrotici rivelano probabilmente una variazione di intensità dei veleni; invece non tanto alla qualità e quantità di questi quanto al particolare orientamento degli stati allergici deve essere attribuita la variazione nel tipo dell'infiammazione.

Negli studi di Klinge sul reumatismo articolare acuto si legge che è sorprendente come nei casi di reumatismo che soccombono rapidamente e che clinicamente hanno evoluto come forma settica, prevalgano delle manifestazioni essudativo-degenerative; le reazioni produttive (nodulo di Aschoff) non appaiono in questi casi. Nei casi cronici, al contrario, è la proliferazione cellulare, la formazione di noduli di Aschoff tipici che predomina. L'autore ritiene che si tratti in questi casi di una questione legata alla intensità della azione nociva. I diversi quadri della reazione allergica devono invece essere interpretati come espressioni dei vari orientamenti della sensibilizzazione dell'organismo e quindi della diversa natura degli equilibri allergici intervenuti.

Il perchè in alcuni casi l'orientamento di questi equilibri porta alla creazione di stati che si visualizzeranno con reazioni iperergiche ed altrimenti stati che si visualizzeranno con reazioni ipoergiche è oscuro.

Con ciò io non voglio dire che i fattori „qualità" e „quantità" dell'agente patogeno sieno destituiti di ogni valore nel determinismo dei vari aspetti della forma della infiammazione e che essi non incidano fondamentalmente nella patogenesi della malattia. E' ben naturale che quando l'antigene (sia esso una sostanza tossica od un microorganismo) interviene nell'ospite in alte dosi e con potere aggressivo concentrato e fortemente valido, i poteri difensivi posti in gioco dalla naturale immunità dell'ospite sono rapidamente e più o meno totalmente sopraffatti, cosicchè non è necessario invocare l'insorgenza di particolari equilibri dell'allergia, oscillanti fra lo stato iperergico e quello ipoergico, per giustificare la genesi del morbo. Le prove sperimentali che noi eseguiamo sugli animali trattandoli con dosi di antigeni certamente molte volte superiori a quelle che si cimentano nelle analoghe malattie spontanee dell'uomo e degli animali, realizzano condizioni come sopra; anche nella patologia umana ed animale spontanea non è improbabile che si verifichino talora condizioni analoghe, come in periodi di grandi e gravi epidemie, o di fronte a germi la cui aggressività e la cui alta e rapida patogenicità non ammette possibilità alcune di difesa.

Tuttavia deve ritenersi che nella patologia spontanea dell'uomo e degli animali le dosi e la qualità degli antigeni aggressori non debbano essere generalmente molto alte e molto gravi, cosí che sia più facile il realizzarsi di un meccanismo di infezione che ammetta, dopo una adeguata preparazione sensibilizzante dovuta a cariche antigeni pre-

cedenti, l'azione di una anche pur piccola ultima carica che sviluppa le sue capacità aggressive su di un terreno preparato. Sperimentalmente sono state più volte realizzate condizioni analoghe; ricordo anzi che Zironi insiste sul fatto che una preparazione sensibilizzante alla azione di cariche di germi anche scarsamente patogeni si ottiene più facilmente quando le dosi preparanti sono piccole, seppure ripetute.

Nella patologia fungina poi, dobbiamo tenere presente un particolare degno del massimo interesse: gli agenti delle micosi sono, per la grandissima maggioranza dei casi, stipiti fungini di origine sicuramente ambientale, di provenienza saprositica, di scarsa o anche nulla attività patogena precedentemente acquisita a spese di tessuti animali viventi. Solo molto raramente la genesi delle malattie fungine spontanee dell'uomo è legata all'azione di funghi parassiti patogeni obbligati od assoluti, mentre la contagiosità di tali forme morbose è limitatissima od addirittura nulla. Perchè l'azione di tali antigeni fungini si eserciti ed una forma morbosa conclamata si stabilisca è necessario per lo più un periodo di adattamento non piccolo e non facile per l'antigene, durante il quale deve raggiungere il suo stato di animalizzazione che rappresenta la vera forma del micete capace di esplicare una azione patogena reale. Per giungere a questo risultato non sono generalmente sufficienti condizioni predisponenti o coadiuvanti generiche, ma è necessario ammettere l'intervento di sensibilizzazioni specifiche che rientrano nel quadro degli stati allergici. Gli esempi che riporterò nel corso di questo lavoro non sono pochi e non poco convincenti e la mia indagine si è proprio rivolta alle malattie fungine spontanee e sperimentali anche perchè dal loro studio mi sembra possano scaturire più evidenti certi fatti che per altre forme morbose sono ammissibili più per analogia che per dimostrazione acquisita.

In conclusione la dottrina dell'allergia con i suoi stati e le sue reazioni diverse in sensi opposti sino all'immunità in senso stretto da una parte, ed alla anergia negativa dall'altra (difesa efficace e benefica nel primo caso, distruzione rapida e morte dei tessuti e dell'organismo ospite dall'altro), ci permette di intravvedere con una certa chiarezza e di spiegare tutta una serie di fenomeni proprii della patogenesi e della evoluzione di malattie infettive, di sensibilizzazioni patologiche, di intossicazioni etc.; più che alla qualità ed alla quantità dell'antigene aggressore, si guarda attraverso questa dottrina ai movimenti istogeni ed umorali preparatorii sensibilizzanti che creano stati di recettività diverse.

Questi concetti saranno da me lumeggiati meglio quando avrò tratto dalla enorme massa di fatti acquisiti a proposito della patogenesi e della evoluzione di micosi spontanee e sperimentali, dell' uomo e degli animali, gli elementi meglio chiarificatori.

Metodi diagnostici dell'allergia

I metodi di cui disponiamo per evidenziare stati di sensibilizzazione (allergia) nel decorso e nell'evoluzione delle malattie fungine dell'uomo e degli animali (malattie spontanee o sperimentali) sono molto numerosi.

Intendendo l'allergia come una diatesi da anticorpi e riportando ad essa tutti i fenomeni che si basano sulla presenza e sull'intervento di anticorpi o sostanze simili, si ammette implicitamente che tutto ciò che avviene dimostrabilmente per la partecipazione di anticorpi è un'allergia assolutamente sicura.

Ora, i metodi per mettere in evidenza gli anticorpi nell'organismo sono molti e svariati: noi distinguiamo i metodi per la dimostrazione degli *anticorpi umorali* da quelli che dimostrano invece gli *anticorpi cellulari*; distinguiamo poi *metodi diretti* a mezzo dei

quali si dimostra direttamente nell'organismo in studio la sensibilizzazione e *metodi indiretti* per cui si trasporta passivamente lo stato di sensibilizzazione dall'organismo in studio in un altro organismo vergine, il quale funziona da rivelatore.

Metodi diretti:

A) Prove umorali: I) *Prove sierologiche*
- *a*) sieroagglutinazione
- *b*) fissazione del complemento
- *c*) sieroprecipitazione
- *d*) reazione tossina-antitossina
- *e*) indice opsonico del siero
- *f*) micotropine
- *g*) micolisine
- *h*) sieroresistenza colturale del fungo

B) Prove istogene: I) *Prove dell'allergia superficiale o cutanea*
- *a*) cutireazione
- *b*) intradermoreazione
- *c*) sottocutaneoreazione
- *d*) contact-test (Sulzberger e Lewis)
- *e*) Moro-test (Jadassohn J.)
- *f*) oftalmoreazione

II) *Prove dell'allergia profonda o viscerale* (equivalenti morfologici dell'allergia)
- *a*) prova di reinoculazione
- *b*) istopatologia delle lesioni seconde
- *c*) istoresistenza colturale del fungo

Metodi indiretti:

A) Prove umorali: Prova del trasporto passivo umorale (prova di Praussnitz-Küstner)

B) Prove istogene: Prova del trasporto passivo istogeno (prova di Bloch B.)

Un tale schematismo nell'elencare i mezzi clinici e sperimentali atti ad evidenziare stati allergici, non va certo esente da critiche in ogni sua parte.

Essendo noto infatti che la principale sorgente di anticorpi umorali è rappresentata dai tessuti e che tali anticorpi non sono soltanto effetto di una reazione svolgentesi negli umori dell'organismo, risulta che quei metodi che noi abbiamo definiti come metodi diretti umorali non sono tali che parzialmente in quanto essi in parte, accanto agli anticorpi umorali, ci dimostrano anche l'intensità nella produzione di anticorpi peduncolati di origine istogena. E la stessa obbiezione si dovrebbe estendere anche a quei metodi da noi definiti metodi diretti istogeni: non si può infatti escludere che gli umori circolanti nella cute sede ad esempio di una prova intradermica abbiano a prender parte alla reazione con gli anticorpi proprii in essi contenuti. Altrettanto si dica pei metodi indiretti.

La questione d'altronde è molto più complessa di quello che potrebbe sembrare in base a queste poche annotazioni; essa si riallaccia infatti ai problemi sulla genesi dell'allergia, tuttora insoluti non ostante i contributi che ad essa hanno dato molti autorevoli ricercatori. Non si sa ancora se l'allergia sia un fenomeno esclusivamente istogeno o se ad

esso partecipi anche un fattore umorale, e neppure si sa quanto dell'uno e dell'altro fattore entri come determinante dello stato allergico.

Lo schema riportato ricalca in parte quello enunciato da Berger nel Congresso dei Patologi tedeschi del 1937; esso è molto utile, data la sua semplicità, ai fini pratici e didattici.

Ma, prescindendo da queste questioni puramente dottrinali e terminologiche, noi vogliamo piuttosto entrare a discutere e a disaminare criticamente le singole prove e vedere quanto esse ci possono dire del fenomeno allergico. Da esse noi invero ci attendiamo di poter giungere a giudicare del fenomeno nella sua interezza: in realtà risulta, anche con una disamina superficiale, che esse del fenomeno allergico non ci rivelano che alcuni aspetti ed anche questi in modo parecchio indeterminato. Nulla esse ci dicono poi su quelle intime modificazioni che avvengono nell'organismo nel momento in cui vi si produce lo stato di sensibilizzazione.

Un primo fatto che scaturisce dalla disamina critica dei singoli metodi è la loro *unilateralità*: è ovvio dire che in una prova intradermica noi mettiamo soltanto in evidenza lo stato allergico di quel determinato tratto cutaneo dove è stato innestato l'allergene ed è improprio quindi da esso fare illazioni sullo stato allergico generale dell'organismo. Altrettanto si dica di tutte le altre prove, le quali non fanno che evidenziarci solo alcuni aspetti della sensibilizzazione ben determinati nel tempo e nello spazio. Date queste premesse, non fa meraviglia il fatto riscontrato più volte che le diverse prove nel medesimo soggetto e nello stesso tempo possano dare talora risultati contrastanti od anche del tutto antitetici.

Nel giudizio di un qualunque stato allergico debbon essere tenuti presenti i due fattori fondamentali che entrano a determinarlo: da un lato l'organismo animale con le sue molteplici e svariate attitudini reattive e dall'altro il germe vivente, elemento estraneo all'organismo e suo agente sensibilizzante.

Il primo fattore, la „reattività organica", presenta differenze di grado nei diversi individui ed anche nello stesso individuo già fisiologicamente, ed ancor più in condizioni patologiche, per azione di diversi elementi sia intrinseci che estrinseci al soma; queste oscillazioni della reattività organica sono tra le più difficili da valutare e da giudicare.

Il secondo fattore, più facilmente controllabile, oscilla anch'esso nella sua azione in rapporto alla dose, alla virulenza primaria, ai tropismi etc. del germe. Il germe nel sensibilizzare l'organismo agisce in maniera duplice: sia come corpo estraneo eterogeneo per l'organismo animale (*azione passiva*), sia come organismo vivente in atto di esplicare azioni patogene (*azione attiva*).

L'azione passiva ha limitata importanza; essa è esercitata da qualunques ostanza di natura proteica od aptenica non vivente e, verosimilmente, anche dal germe ucciso; accanto alla frazione sensibilizzante specifica (proteica od aptenica?), si deve qui ammettere che ne agiscano pure altre aspecifiche o paraspecifiche.

L'azione attiva è invece quella che, a nostro modo di vedere, ha la più alta importanza nel produrre e nel caratterizzare lo stato di sensibilizzazione; essa è legata alle attitudini patogenetiche del germe, ma non a quelle che noi definiamo come virulenza primaria del parassita, sebbene alle attitudini patogenetiche modificate al primo contatto del germe con i tessuti viventi per parte della reattività primaria istogena ed umorale dell'organismo vergine. Noi quindi ammettiamo che nel prodursi uno stato di sensibilizzazione si verifichi, accanto alla modificata reattività organica dell'individuo, una modificazione delle attitudini patogenetiche del germe.

Se noi pratichiamo una reazione intradermica nel soggetto allergico, il risultato sarà

relativo da un lato alla natura dell'allergene impiegato e dall'altro alla reattività individuale. La natura degli allergeni che si impiegano nelle prove allergiche non corrispondono certo a quelli che nel caso specifico hanno prodotto nell'organismo lo stato di sensibilizzazione: essi corrisponderanno solo nelle loro azioni passive, ma non in quelle attive, molto più importanti che sono legate alle attività patogenetiche del germe, modificate ora in un senso ora nell'altro in seguito ad un primo contatto con l'organismo. La medesima considerazione si può estendere a tutte le altre prove dell'allergia che sono a nostra disposizione.

E' questo il principale punto debole che le prove allergiche presentano alla critica; mentre noi per evidenziare il fenomeno allergico dovremmo metterci nelle stesse condizioni che si son verificate nell'organismo all'atto della sua sensibilizzazione, in realtà ci poniamo in condizioni del tutto artificiali che dalle prime notevolmente si discostano; ed è lecito quindi ammettere che, come tali, esse non ci riprodurranno in tutta la sua interezza il quadro e lo stato di sensibilizzazione.

E tutto questo indipendentemente dalla concentrazione, specificità, composizione chimica etc. degli allergeni impiegati, tutti dati questi che siamo ancor lungi dal conoscere esattamente; ed infatti, anche quando si sarà raggiunto lo scopo, il che è ancora lontano, di avere allergeni assolutamente specifici, quando anche se ne sarà scoperta la concentrazione ottimale e la composizione chimica corrispondente, urteremo pur sempre contro l'ostacolo di non poter dare al nostro allergene quel ‚quid' caratteristico e fondamentale che è la aggressività, intesa non come virulenza primaria, ma come attitudine patogenetica modificata al contatto dei tessuti e degli umori animali e, sopratutto, in diverso modo modificata a seconda della reattività primaria organica, diversa per ogni singolo individuo e a sua volta oscillante nello stesso individuo in rapporto a molteplici fattori estrinseci ed intrinseci interferenti.

Non sono queste le sole obbiezioni che si possono avanzare sul valore delle prove allergiche. Il secondo fattore da considerare nella valutazione delle reazioni allergiche è rappresentato, come sopra abbiamo detto, dal fattore „reattività organica". Abbiamo sopra ricordato le oscillazioni che questa presenta, già in condizioni fisiologiche, in rapporto a svariati fattori estrinseci (fattori ambientali meteorici, stagionali, raggi ultravioletti etc.) ed a svariati fattori intrinseci (stato funzionale del sistema neurovegetativo, dei sistemi endocrini etc.). Di tutti questi molteplici fattori interferenti si dovrebbe teoricamente tener conto nel giudizio di una reazione allergica.

L'esperimento ha anche dimostrato che gli stati allergici, in uno stesso individuo, variano in rapporto al tempo ed allo spazio. Le ricerche allergometriche di v. Groer dimostrano che le reazioni intradermiche nei tubercolosi sono più intense nei territori cutanei contigui al focolaio morboso e vanno mano mano attenuandosi quanto più ci si allontana da esso; il che fa implicitamente ammettere che anche gli stati allergici profondi viscerali possano esser diversi da quelli superficiali cutanei che noi mettiamo in evidenza e che anche essi presentino intensità diversa a seconda dei diversi organi e tessuti. Intesa l'allergia come diatesi di anticorpi, è lecito presupporre che gli stati allergici più spiccati si abbiano in quegli organi o tessuti che normalmente sono deputati alla produzione degli anticorpi stessi o che altrimenti ne sono i principali rifornitori.

Analoghe ricerche allergometriche dimostrano poi che nello stesso territorio cutaneo dell'organismo ammalato la reazione cutanea può presentare oscillazioni anche notevoli nel corso della giornata, nel breve termine quindi di 24 ore.

Queste oscillazioni che la reattività organica, e con essa lo stato allergico individuale, posson presentare e quasi sempre presentano nel tempo e nello spazio, valgono senza

dubbio a spiegare i casi non infrequenti in cui, nell'ambito delle manifestazioni seconde rivelabili nell'organismo ammalato con gli esami istopatologici, noi riconosciamo nei diversi organi e anche nel medesimo organo commisti gli aspetti morfologici di reazioni anche opposte di allergia; gli aspetti morfologici dell'allergia ipoergica ad esempio, rappresentati dall'infiammazione necrotizzante e largamente destruente, possono esser contigui od anche commisti in alcuni casi con quelli dell'allergia iperergica, che ha invece i caratteri dell' infiammazione granulomatosa e demarcante.

Il giudizio quindi di una prova allergica diagnostica deve esser subordinato a questi criteri di limitazione, nè si può sui risultati di dette prove formulare una diagnosi generale di stato allergico.

Queste tre principali critiche che abbiamo fatto ai metodi diagnostici della allergia, vale a dire la loro *unilateralità*, la loro non perfetta rispondenza e la loro *non perfetta riproduzione delle condizioni medesime che si svolgono nello stato normale di sensibilizzazione*, e infine la loro *limitazione nel tempo e nello spazio*, fanno perdere molto all'esattezza dei metodi e minano fortemente il loro valore.

Per il giudizio d'uno stato allergico van tenuti presenti i fatti che siamo venuti elencando; solo dallo studio critico diligente delle reazioni diagnostiche dell'allergia, e non di una sola ma di tutte quante sono a nostra disposizione, cercando di metterci, per quanto è possibile nelle stesse condizioni che si son verificate in modo naturale nel caso particolare e valutando infine i due fattori tempo e spazio delle reazioni allergiche praticate, potremo trarre un giudizio che, se non è assolutamente esatto, pure di molto si avvicina alla verità biologica.

Allergia ed immunitá nell'Actinomicosi e nell'Actinobacillosi

Allergia e immunità nell' Actinomicosi. — Le ricerche sulla immunbiologia dell' actinomicosi sono venute attraversando diversi periodi. In un primo tempo gli autori, tutti indirizzati alla ricerca di un metodo di laboratorio che potesse servire a differenziare l'actinomicosi da quelle molte altre affezioni morbose che spesso entrano nella discussione diagnostica differenziale di questi casi, si sono esclusivamente interessati di ricerche sierologiche senza affatto porsi il quesito dell'intimo significato di queste prove e senza per nulla indagare sulla natura e la biologia della immunità in questa malattia; in un secondo periodo invece si è cercato di studiare l'intima essenza di questi fenomeni e di stabilire le leggi biologiche che li governano. Di pari passo sono proceduti gli studi sperimentali che hanno dato, più che non gli studi clinici, larga messe di risultati con notevoli vantaggi pratici e teorici.

Gli studi sulla sierologia dell'actinomicosi sono stati iniziati da Widal e collaboratori nel 1908. Spetta a Widal il merito di aver fissato come canone fondamentale che nelle affezioni sostenute da funghi actinomiceti si possono stabilire delle modificazioni particolari dei sieri sanguigni rivelabili a mezzo delle comuni prove di agglutinazione, precipitazione e fissazione del complemento che da un lato stanno a testimoniare lo stato di malattia e che dall'altro ne influenzano indubbiamente il decorso, gli esiti ed i diversi aspetti clinici.

Widal nelle sue ricerche ha urtato contro non poche difficoltà: egli ha dovuto rinunciare alle prove di sieroagglutinazione specifica per l'impossibilità di ottenere sospensioni omogenee e, sopratutto, stabili del fungo; egli ha però evitato questa difficoltà praticando la reazione con le sospensioni di un altro fungo, vale a dire lo *Sporotrichum beur-*

manni, il quale dà sospensioni omogenee e provviste d'una stabilità che in genere è di durata sufficiente per la lettura dei risultati. Le prove quindi fatte da Widal vanno intese nel senso di *prove aspecifiche* o *paraspecifiche:* il siero di actinomicosici si dimostrò capace di agglutinare le sospensioni di *Sporotrichum* fino a titoli di $^1/_{500}$. Nel siero degli actinomicosici, a mezzo della prova di fissazione del complemento, è stata da Widal dimostrata anche la presenza di una sensibilizzatrice, ma parimenti aspecifica o paraspecifica.

Gli autori che seguiranno non faranno che confermare le conclusioni di Widal e dei suoi collaboratori.

Ravaut e Pinoy (1909) in un caso di *dermatite nodulare sottocutanea ed intramuscolare* da *Act. thibiergei* hanno notato che il siero del malato agglutinava a un tasso di $^1/_{50}$ lo *Spor. beurmanni* e dava pure fissazione del complemento di fronte a questo antigene.

Roger, Sartory e Bory (1909) hanno studiato una *pseudotubercolosi polmonare* da *Oospora* (= *Actinomyces*) *pulmonalis* acido-resistente ed un caso di vera *oosporosi polmonare* da *Oospora bronchialis*, nelle quali la prova di fissazione di fronte all'antigene specifico dava sempre netta inibizione dell'emolisi, mentre nelle prove agglutinanti l'esito era sempre negativo.

Roger e Bory (1910), Garnier e Bory (1911) e Bory e Flurin (1911) in altri casi di *oosporosi polmonare* hanno costantemente riscontrato nel siero una sensibilizzatrice.

Sartory (1913) ha osservato un caso di *pseudotubercolosi polmonare* da *Oospora pulmonalis* var. *cromogena* nel quale il siero del paziente, come nei casi precedenti, non agglutinava le sospensioni del fungo specifico, ma dava di fronte ad esso una netta inibizione dell'emolisi nelle prove di fissazione.

Chauffard e Troisier (1909), Coyen e Gougerot, Schoukéwitch (1908) in singoli casi hanno avuto risultati analoghi.

In un caso di *micetoma* a grani bianchi da *Act. madurae* complicato da una affezione da blastomiceti, Flu (1914) ha avuto invece negative tanto l'agglutinazione che la fissazione del complemento.

In un caso di actinomicosi umana da *Act. israëli*, Arêa Leão (1918) ha riscontrato positive entrambe le prove.

Yazbek (1920) in una brillante tesi, dopo un pregevole studio dei casi di *micetoma actinomicosico* già descritti e il referto di casi personali, ha riportato i risultati complessivi da lui ottenuti nelle ricerche dierologiche fatte in 4 casi di questa malattia. La prova di agglutinazione su una sospensione di spore di *Spor. beurmanni* è sempre risultata positiva di fronte ai sieri actinomicosici e ad un tasso relativamente alto, compreso tra $^1/_{90}$ e $^1/_{120}$, mentre di fronte a 3 sieri di individui normali la reazione è stata positiva solo in un caso a un tasso minimo di $^1/_{40}$ e di fronte al siero di un paziente con diagnosi di pseudomicetoma del piede di origine luetica è stata pure positiva, ma anche qui a diluizione non superiore a $^1/_{40}$. Le prove di fissazione del complemento sono state fatte di fronte all'antigene specifico actinomicosico, di fronte ad antigene sporotricosico e ad antigene luetico rispettivamente con sieri actinomicosici, di altri micopazienti affini e coi sieri di controllo di evariata provenienza: i 4 casi di micetoma actinomicosico hanno risposto con risultato fortemente positivo di fronte ai due antigeni fungini, e sempre in modo piú evidente di fronte all'antigene specifico; la prova di fronte a questi antigeni è stata positiva anche usando i sieri di una blastomicosi cervico-facciale, di una dermatite verrucosa da *Phialophora* e di una adenite inguinale ad eziologia micosica insospettata; sempre negativa la prova in 43 casi di controllo, in gran parte di lue, leishmaniosi e tubercolosi. La reazione di Wassermann con antigene luetico è risultata sempre negativa coi sieri di ammalati di micetoma actinomicosico.

In un caso di *actinomicosi polmonare* da *Oospora catharralis* in donna di 34 anni, Sartory e Bailly (1921) hanno avuto risultato nettamente positivo nella prova di fissazione del complemento di fronte all'antigene specifico.

Clairmont (1922) e Walcher (1923) hanno ottenuto pure numerosi risultati positivi nelle prove di deviazione del complemento mettendo a contatto il siero di actinomicosici con un antigene specifico: questi autori anche usando i sieri di luetici hanno ottenuto reazione positiva in percentuale del 30—40 % di fronte all'antigene micosico.

Bolognesi e Chiurco (1925) in un caso di *mediastinite fistolizzata* da *Malabranchea*

Bolognesii-Chiurcoi hanno ottenuto sporo-agglutinazione positiva a un tasso di $^1/_{100}$ verso le sospensioni di *Spor. beurmanni* e risultato positivo netto anche nella prova di deviazione.

Ronchese (1929) in una forma di *actinomicosi* primitiva *della pelle* da *Act. bovis* non ha ottenuto alcuna fissazione del complemento mettendo il siero del malato a contatto dell'antigene specifico: l'antigene era stato però diluito fortemente dato il suo alto potere anticomplementare; ripetuta la prova con un antigene aspecifico preparato dalle colture di *Sporotrichum*, essa ha sortito invece risultato positivo, per quanto ancora debole e parziale.

Le Baron e Patay (1929) nel corso di una affezione da *Act. pulmonalis* hanno avuta positiva tanto la prova di agglutinazione che quella di fissazione.

Artom (1930) ha praticato le reazioni di agglutinazione e di fissazione del siero di un paziente affetto da *micetoma actinomicosico* e con un siero normale di controllo verso le sospensioni di *Spor. gougeroti;* le prove di fissazione hanno sempre fallito, quelle di agglutinazione invece sono risultate positive col siero del paziente, ma solo fino a diluizione di $^1/_{50}$, completamente negative col siero normale di controllo; la reazione poi si è manifestata tanto di fronte all'antigene specifico che a quello sporotricosico aspecifico.

Ricordiamo le ricerche sierologiche che Tarantelli (1934) ha fatto in un caso di *actinomicosi mascellare colliquativa* da *Act. israeli* con risultati analoghi a quelli già sopra elencati: le prove di deviazione di fronte ad antigeni affini di *Act. bovis* tipo *sulphureus* ed *albus* sono risultate positive, così anche le prove agglutinanti di fronte alle sospensioni di *Spor. beurmanni.* De Lisi (1936) invece in un caso di *pachimeningite granulomatosa* micotica da *Act. albus* non ha potuto dimostrare alcuna reazione sierologica positiva.

Particolare interesse hanno alcune ricerche fatte sull'immunità nell'actinomicosi da Dick e Tumieliff (1918) a proposito di un singolare caso di *sepsi actinomicosica* da *Streptothrix putorii* n. sp. in cui è stato studiato l'indice opsonico del siero sanguigno e in cui il fungo è stato isolato dal sangue circolante; la sepsi era insorta in seguito alla morsicatura di una donnola e decorreva con accessi febbrili gravi. Si è trovato un aumento delle opsonine nel siero di sangue del paziente: il punto di estinzione opsonica, che nel siero normale è di $^1/_{15}$, nel siero dell'ammalato raggiungeva $^1/_{30}$ e durante gli accessi febbrili saliva anche a $^1/_{60}$; la siero-agglutinazione col siero del paziente ha avuto esito positivo soltanto fino a $^1/_{20}$, con siero normale essa è risultata completamente negativa; la prova di fissazione del complemento specifica è stata totale e completa.

Anche in campo veterinario le prove sierologiche si sono dimostrate di notevole ausilio per differenziare le forme di actinomicosi animale da quelle clinicamente affini di actinobacillosi e di tubercolosi: ricordiamo la statistica comprensiva ed estesa di Magnusson (1927) il quale ha condotto i suoi esperimenti su ben 389 casi di actinomicosi bovina e suina, ottenendo dal suo studio risultati veramente notevoli agli scopi pratici.

Tutti questi dati sulla sierologia dell'actinomicosi non hanno valso ad altro che a convalidare le conclusioni a cui Widal già fin dal 1908 era giunto con i suoi collaboratori; esse in parte hanno limitato i confini ed hanno diminuito la portata ed il valore clinico di queste prove, ma i concetti fondamentali rimangono pur sempre gli stessi: essere cioè le prove sierologiche di notevole ausilio nella diagnosi delle affezioni actinomicosiche, ma che esse non siano mai sufficienti di per sè sole per giungere ad una diagnosi assolutamente specifica. In questi termini hanno concluso tra gli altri, Yazbek e Artom nei riguardi del micetoma actinomicosico, Sartory nei riguardi delle oosporosi (actinomicosi) polmonari e Ronchese per quel che riguarda le forme cutanee superficiali di actinomicosi. Le prove sierologiche positive indirizzano soltanto verso la diagnosi generica di micosi, senza poter a priori distinguere se si tratti di actinomicosi o non piuttosto di sporotricosi, blastomicosi ed altro, e d'altro canto quelle negative non ci autorizzano ad escludere senz'altro l'affezione actinomicosica.

Tra le acquisizioni nuove va segnalato, come fatto di notevole interesse pratico, il fatto messo in evidenza da Yazbek; secondo le ricerche di questo autore, i sieri di ammalati di micetoma actinomicosico non darebbero la reazione di Wassermann con antigene

luetico e reciprocamente i sieri luetici non darebbero reazioni positive di fronte all'antigene fungino, sia esso actinomicosico o sporotricosico. Questo secondo fatto è stato invero contradetto da Clairmont e da Walcher, i quali invece hanno notato nelle suddette condizioni reazioni positive in percentuale del 30—40% dei casi: di modo che al riguardo non ci è possible dire ancora una parola definitiva.

A contribuire nello studio della immunbiologia dell'actinomicosi son venute le ricerche sulle *modificazioni istogene* rivelabili clinicamente con le prove allergiche cutanee.

Le notizie che la letteratura ci offre sugli stati allergici nella actinomicosi sono molto scarse; esse non raggiungono certo la mole degli studi sierologici, ma pure concorrono nel loro insieme a completare le nostre conoscenze sull'immunità da actinomiceti e valgono ad aprire un campo di studi che ulteriormente ampliato e discusso potrebbe darci non pochi dati utili al riguardo.

Arêa Leão (1918) nel suo caso di actinomicosi da *Act. israeli* ha ottenuto reazione positiva inoculando nel derma del paziente un allergene totale preparato da un actinomicete non patogeno; Hübschmann (1921) in una forma atipica di actinomicosi ha ottenuto una intradermoreazione positiva molto estesa ed intensa con una „actinomicetina" specifica; Claypole (1921), Clairmont (1922) e Walcher (1923) hanno essi pure provocato reazioni cutanee talora anche violente ed estese inoculando per via percutanea od intradermica il fungo specifico nei portatori di un focolaio actinomicosico e così anche Galli (1931) in un caso di *adenopatia sottomascellare cronica* da una *Streptothrix* pigmentata n. sp.

In contrasto con questi risultati positivi stanno i risultati negativi che hanno avuto Ravaut e Pinoy del caso già citato di dermatite nodulare da *Act. thibiergei* (prova intradermica con sporotricosina), De Lisi nel suo caso di pachimeningite granulomatosa da *Act. albus* (prova intradermica con l'allergene specifico) e infine Ferrari e De Filippi (1937) nel loro caso di actinomicosi polmonare con generalizzazione (prova intradermica con tricofitina e tubercolina). Anche Claypole si afferma per l'incostanza della reazione.

Riguardo alla *specificità* della prova allergica con „actinomicetina" nei portatori di un focolaio di actinomicosi, Laroche scriveva nel 1931 che essa è strettamente specifica, dato che l'iniezione intradermica di sporotricosina e di tricofitina negli actinomicosici non dà mai reazioni positive. Sacconaghi, e con lui molti altri, d'altro canto affermano che la cutireazione alla tubercolina può esser talora positiva negli actinomicosici. Recentemente Adaut e Spehl (1935) hanno dedicato all'argomento uno studio particolare. L'allergene usato da questi autori è un filtrato colturale di actinomicete. Sperimentando la reattività cutanea di 2 individui con actinomicosi pleuropolmonare, Adaut e Spehl hanno confermato l'esistenza in questi ammalati di spiccati stati allergici verso gli allergeni specifici; però hanno osservato come tali reazioni si possano provocare anche con iniezioni intradermiche di tricofitina; d'altro canto soggetti con tricofizia profonda si sono dimostrati ipersensibili verso actinomicetina con un comportamento identico a quello presentato verso la tricofitina. Per l'aspecificità delle prove allergiche negli actinomicosici si sono affermati anche Claypole, Clairmont e Walcher.

Nei riguardi delle prove intradermiche allergiche (immunità istogena) dell' actinomicosi noi possiamo trarre conclusioni analoghe a quelle sopra riferite sulla sierologia della malattia: si tratta di prove aspecifiche, con limiti di aspecificità ancor più ampi che non le prove sierologiche e con caratteri di gruppo, e di prove che non sempre sono ad esito positivo anche nei casi sicuramente accertati per altre vie.

Ricerche sperimentali. — Molti lavori sperimentali sono comparsi sulla immunbiologia dell'actinomicosi; noi stralciamo da questi le notizie che più ci interessano.

Fin dal 1904 Lasserre concludeva in alcune sue ricerche che nel siero di conigli ino-

culati con forti dosi di un *Actinomyces* patogeno erano dimostrabili degli anticorpi agglutinanti.

Nello stesso anno Biagi giungeva ad analoghe conclusioni in uno studio sufficientemente esteso e complesso. Biagi ha sperimentato con 5 stipiti di actinomiceti (*Act. albus* Beretsnew, *Act. zopfi*, *Act. madurae*, *Act. albus* II, *Act. queensland*) ed ha cercato quale fosse il comportamento delle sospensioni del fungo verso i sieri omologhi ed eterologhi; egli ha trovato un potere agglutinante minimo nei sieri immuni dei primi tre ceppi, piú accentuato per gli altri due; ha trovato inoltre che la agglutinazione non è specie-specifica, ma che ha valore di gruppo, salvo una frequente maggior evidenza per il ceppo omologo.

In seguito venivano le ricerche di Di Donna che conducevano agli stessi risultati; Di Donna dimostrava in piú che è possibile conferire agli animali da esperimento un certo grado di resistenza vaccinandoli con dosi ripetute di colture uccise al calore o attenuate con l'invecchiamento, e che il siero degli animali cosí vaccinati ha spiccata azione antimicosica quando venga inoculato contemporaneamente al fungo, mentre per sè stesso esso non possederebbe alcuna azione antitossica o terapeutica.

Un'azione preventiva e la possibilità di conferire all'animale un certo grado di resistenza con un'immunizzazione passiva è stata invece negata da Sanfelice (1904) il quale nel 1921, riprendendo l'argomento della immunità nell'actinomicosi con uno stipite di *Act. sanfelicei* ha trovato che solo l'inoculazione del fungo nell'animale è capace di conferire ad esso un certo grado di resistenza, mentre questa proprietà non possederebbero nè i sieri immuni, nè i filtrati colturali del fungo stesso.

Uno studio abbastanza completo sull'immunità nell'actinomicosi ha condotto Colendoli nel 1995. Tre ceppi di actinomicete sono stati usati negli esperimenti ed i risultati sono stati i seguenti: 1) l'immunità si ottiene duratura e completa solo quando si inoculi l'animale con ceppi molto virulenti e con dosi ripetute e crescenti; 2) l'immunità invece che si ottiene quando si vaccini l'animale con ceppi poco o nulla virulenti è solo capace di salvare l'animale da inoculazioni di ceppi di ugualmente scarsa patogenicità, mentre non raggiunge l'intento quando le reinoculazioni si facciano invece con stipiti altamente virulenti.

Con 10 stipiti di *Actinomyces*, Schoukewitch ha ripreso lo studio della sierologia e dell'immunità; egli ha confermato l'esistenza di agglutinine nel sangue degli animali a lungo trattati con inoculazioni fungine e le proprietà gruppo-specifiche di queste e ha accertato in piú l'esistenza in esso di precipitine; anche nei riguardi dell'immunità questo autore ha confermato in linea di massima i risultati degli autori precedenti: inoculando infatti un ceppo di *Act. farcinicus* ripetutamente nel sottocutaneo della cavia egli è riuscito infatti a conferire all'animale una refrattarietà verso successive inoculazioni endoperitoneali di dosi mortali dello stesso micete; ed essendo giunto allo stesso risultato anche usando altri stipiti fungini per l'immunizzazione, egli ha concluso col ritenere che l'immunità abbia caratteri gruppo-specifici e non specie-specifici.

Sampietro nel 1908 ha messo in evidenza il diverso comportamento che presentano rispetto all'organismo animale i filtrati colturali ed il fungo in toto: un filtrato di *Actinomyces* aerobio patogeno non meglio reidentificato, isolato da un caso umano di actinomicosi mascellare, inoculato anche ad alte dosi, non conferisce ai sieri animali proprietà agglutinanti, mentre l'inoculazione dei corpi fungini d'un *Actinomyces bovis* egualmente apatogeno determina l'insorgenza nei sieri dei conigli di attitudini agglutinanti anche a diluizioni de $^1/_{100}$.

Oltremodo interessanti nel campo dei fenomeni allergici sono le osservazioni riportate fin dal 1908 da Nakajama Heiyiro. Questo autore, studiando l'azione patogena nelle cavie di un ceppo di *Act. eppingeri* notevolmente degradato nelle sue attitudini aggressive per i continui trapianti in laboratorio durati per parecchi anni, ebbe a notare che mentre la cavie nuove sopportavano senza gravi danni l'inoculazione endoperitoneale anche di 12 colture su agar, quelle precedentemente trattate con dosi molto inferiori morivano invece in breve tempo ad una seconda inoculazione, con un quadro grave di pseudotubercolosi diffusa peritoneale. Questo è per noi un esempio tipico di *iperrecettività* che trova appoggio nelle osservazioni che l'autore ha fatto sul tempo di sua comparsa e di sua persistenza: lo stato di iperrecettività non si stabilisce infatti che dopo almeno 7 giorni dalla prima inoculazione e come tale persiste solo per 3—4 settimane.

Gli studi piú completi sulla actinomicosi sperimentale sono quelli relativamente

recenti di Dessy e di Redaelli; essi si completano a vicenda perchè dell'immunità Dessy ha fatto lo studio sierologico, mentre Redaelli ha stabilito le basi morfologiche del fenomeno.

Dessy (1926) ha studiato l'immunità attiva e passiva ed i fenomeni allergici nella actinomicosi sperimentale. Premettiamo che le prove allergiche negli animali infetti sono sempre fallite, sia nelle prove intradermiche locali che nelle reazioni generali osservabili in seguito alla introduzione in vena dell'allergene; notiamo anche per incidenza che l'allergene in esperimento era costituito dai brodofiltrati colturali del fungo. Questo autore ha avuto esito negativo anche nelle prove di immunizzazione attiva, non ostante i diversi procedimenti impiegati nel vaccinare gli animali ed i molteplici vaccini sperimentati; anzi egli, usando del fungo vivo e virulento per diverse vie, ha potuto notare un aumento della sensibilità dell' animale verso il micete patogeno, con morte precoce degli animali premuniti rispetto ai controlli. Anche negli animali sottoposti a un trasporto passivo dell'immunità, l'autore non è riuscito a mettere in evidenza un aumento di resistenza, ma piuttosto uno stato di aumentata recettività alla seconda infezione. Gli studi sierologici hanno permesso di stabilire che nei sieri degli animali infetti e vaccinati si ha soltanto formazione di scarsi anticorpi devianti il complemento, mentre manca sempre la formazione di agglutinine, di precipitine e di termoprecipitine.

Redaelli (1928) secondo le indicazioni di Dessy, ha vaccinato gli animali con piccole dosi vive di *Nocardia* (*Actinomyces*) *sanfelicei* per diverse vie e quindi ha inoculato in essi una dose mortale del fungo. Egli in linea generale ha esservato che il procedimento vaccinante determina in taluni animali uno stato di *iperrecettività*, mentre in altri determina invece uno stato di *iperresistenza*. Queste modificazioni sono state considerate alla stregua di fenomeni allergici, riferendosi a quanto Zironi sostiene nella sua dottrina sull'immunità. Lo studio anatomo-istologico ha permesso di differenziare molto bene i due quadri: l'animale iperrecettivo muore in seguito all'inoculazione endoperitoneale con un quadro di peritonite diffusa, mentre quello iperresistente non presenta che scarsi infiltrati nodulari della sierosa e fatti di cicatrice con estese sinfisi peritoneali. Ma le piú belle ed interessanti conclusioni delle studio del Redaelli sono quelle riferentesi ai quadri istopatologici: *equivalente morfologico* dello stato di iperrecettività consiste qui in una prevalenza dei fatti essudativo-vascolari su quelli semplicemente produttivi, nel prolungarsi del periodo infiammatorio sieroso-cellulare, in una comparsa tardiva e scarsa degli elementi istiocitari di difesa per cui il fungo non trovando resistenze si mantiene e si moltiplica adattandosi anche al nuovo terreno di coltura vivente; nello animale iperresistente invece, aumentati i poteri litici generici e specifici del siero di sangue, prevalenti i fatti infiammatori produttivi ed incapsulanti su quelli schiettamente essudativi, la lotta tra il germe e l'organismo si prolunga con esito in cronicità del processo per un realizzatosi stato di equilibrio. Dello stato di iperresistenza sarebbe anche indice il diverso aspetto che il fungo assume nelle lesioni: mentre nel controllo il fungo prende l'aspetto bacillare, nell'animale iperresistente il fungo ostacolato nel suo sviluppo e nel suo diffondersi a regioni vicine assume invece la forma a stella e a rosetta con produzione delle caratteristiche clave. Anche nei rapporti del trasporto passivo dell'immunità Redaelli è d'opinione che esso sia capace di conferire all'animale indifferentemente i due opposti stati di *iperrecettività* e di *iperresistenza.*

Considerazioni generali sull'allergia e immunità nell' actinomicosi. — Nei riguardi dell'actinomicosi noi non possiamo certo dire di esser giunti a porre dei punti fermi e definitivi: questa è la prinicipale constatazione che scaturisce dalla nostra revisione.

Le sole ricerche che ci portano un qualche lume sono le ricerche sperimentali, e sopratutto quelle più recenti or ora riferite di Dessy e di Redaelli. Esse documentano la varietà notevole di reazioni con cui l'organismo affetto da actinomicosi può rispondere al contatto dell'allergene specifico; attitudini reattive che oscillano tra i quadri estremi di iperrecettività e di iperresistenza e che trovano la loro documentazione morfologica nei diversi quadri istopatologici che la malattia può presentare.

E' lecito ora pensare che anche nell'actinomicosi spontanea dell'uomo e dell'animale questi stati allergici oscillanti esercitino una decisa influenza sul processo morboso in

modo da caratterizzarne la sintomatologia clinica, il decorso, gli esiti etc.? I quadri clinici ed istopatologici che la letteratura sulla actinomicosi umana ed animale riporta non danno prove convincenti al riguardo: malattia a decorso cronico con caratteristiche uniformi e con note anatomo-patologiche costanti, l'actinomicosi non dà segni di movimenti allergici oscillanti. Dati gli aspetti morfologici della actinomicosi spontanea parrebbe solamente che quasi sempre essa determini nell'organismo umano degli stati di iperrecettività.

Certo si deve ammettere che, data da un lato la diffusione dell'*Actinomyces* nell' ambiente e la facilità con cui esso può venire a contatto coi tessuti umani viventi e la rarità delle forme actinomicosiche nell'uomo dall'altro lato, il fattore recettività deve giocare in questa infezione un ruolo di primissimo piano. E quando si pensi poi che gli agenti actinomicetici, quali saprositi ambientali, sono quasi sempre destituiti di virulenza primaria e necessitano certamente uno sforzo di adattamento per la loro animalizzazione si comprenderà ancor meglio come più che i fattori predisponenti o coadiuvanti si deve invocare l'intervento di preparazioni specifiche. Non ci pare però ancora dimostrato che l'infezione per stabilirsi sia in massima parte, se non esclusivamente, condizionata da uno stato di iperrecettività stabilitosi nell'organismo in seguito ad un primo contatto col parassita.

Zironi nel suo studio sull'iperrecettività cosí si esprime nei riguardi dell'actinomicosi: „si osserva nell'actinomicosi lo stesso fenomeno paradossale della lebbra; la gravità e la progressione di una malattia il cui agente patogeno è sprovvisto di virulenza. Appare perciò logico ricercare in una abnorme recettività del malato la causa del persistere e dell'estendersi della malattia, ed attribuire a questa un'influenza di gran lunga preponderante su quella della virulenza dell'agente patogeno in sè". Quale sia il periodo in cui la iperrecettività si stabilisce, se cioè si stabilisca prima dell'infezione, nel periodo di incubazione della malattia od a malattia già conclamata, Zironi non si pronuncia.

Sta di fatto che anche i quadri istopatologici che la malattia spontanea dell'uomo ci offre, i classici quadri cioè del granuloma actinomicosico in cui si può ritrovare il fungo in abbondanza e perfettamente conservato, parlano per un'infezione decorrente in un organismo iperrecettivo. L'intima morfologia del granuloma actinomicosico, almeno per quel che si riferisce alla malattia umana, con la quasi costante prevalenza dei fatti essudativo-vascolari sulle reazioni iperplastiche demarcanti, la scarsissima tendenza a guarigione spontanea, il difficile cedere del processo morboso a qualsiasi terapia anche specifica, sono tutti elementi che giustificano l'affermazione che nella patogenesi di questi processi debbono stabilirsi condizioni di iperrecettività specifica. E la nostra asserzione trova piena convalida nei reperti sperimentali citati di Dessy e Redaelli.

Solo se fosse lecito trasportare senza riserve le conclusioni sperimentali nel campo delle malattie spontanee si dovrebbe quindi senz'altro ammettere come un fatto ormai acquisito che la condizione di iperrecettività è fattore essenziale per lo stabilirsi e il persistere di ogni affezione da actinomiceti.

Allergia ed immunità nell'actinobacillosi. — Come corollario del capitolo dell'actinomicosi trattiamo brevemente dell'actinobacillosi, un argomento che interessa quasi esclusivamente la patologia veterinaria. E'quasi concorde opinione tra gli autori che il germe sostenitore di questa malattia sia da ascrivere alla classe degli schizomiceti; alcuni trattatisti d'altro canto le pongono ancora nel gruppo degli eumiceti.

Ricerche immun-biologiche sono state fatte in tal campo da Lignières e Spitz fin dal 1902: due bovini, l'uno sano e l'altro infetto di actinobacillosi, vengono inoculati nel sottocutaneo con una „actinobacillina" preparata secondo il classico metodo di prepara-

zione della A. T., ma entrambi presentano reazioni generali pressochè uguali, anzi il rialzo termico che segue l'inoculazione è piú marcato nel bovino sano che in quello infetto. In un altro esperimento analogamente condotto il rialzo termico è stato invece considerevole solo nell'animale ammalato. Gli autori non ostante questi risultati contrastanti hanno rispettato l'importanza della prova ed hanno addotto come causa delle contraddizioni nei loro esperimenti la non perfetta preparazione della loro actinobacillina. Gli stessi autori, in campo immunitario, hanno dimostrato nel siero degli animali infetti l'esistenza di agglutinine specifiche.

Magnusson (1928) e Davies e Torrange (1930) in base a ricerche sierologiche hanno concluso che la diagnosi si actinobacillosi può esser facilmente posta ricorrendo alle prove di agglutinazione; gli ultimi due autori citati hanno anche constatato per via sperimentale che, mentre il siero di coniglio normale non agglutina l'*Actinobacillus* a diluizioni superiori a $^1/_{20}$, quello di conigli immuni dà reazione positiva fino a $^1/_{640}$ od anche, eccezionalmente, a diluizione di $^1/_{1280}$. Queste ultime ricerche sono veramente attendibili perchè condotte con ben 11 diversi stipiti del microorganismo.

Messieri (1931) in una completa monografia sull'argomento si è ampiamente interessato della questione. Per le prove allergiche l'autore ha fatto uso di diversi antigeni introducendoli per diverse vie in animali sani ed ammalati; egli ha però osservato che le reazioni che si producono sono incostanti e di grado vario, sia per la primitiva alta tossicità dei derivati actinobacillari, sia anche per la notevole disparità nella sensibilità individuale dei bovini; per questo autore quelle tra le prove allergiche che possono dare maggiore affidamento sono le prove locali e non quelle basate sui sintomi generali presentati dall'animale quale il rialzo termico susseguente all'introduzione dell'allergene; è da notare nei riguardi della specificità della reazione che, su 4 casi di actinobacillosi riportati dall'autore per esteso, in due si sono avute positive le prove tubercoliniche, il che, a parer nostro, fa perder molto del valore alla reazione, salvo che in tali casi non si trattasse di un'associazione morbosa tubercolare ed actinobacillare.

Negli esperimenti di Messieri, le reinoculazioni di materiale vivo e virulento nell'animale previamente trattato dimostrano in esso un aumento di sensibilità verso il parassita. Tutti questi fatti nel loro insieme concordano col farci ritenere senza dubbio alcuno che nell'organismo in preda all'infezione actinobacillare si manifestino alcune modificazioni riportabili ai quadri dell'allergia.

Nei riguardi poi delle prove agglutinanti Messieri è del parere degli autori già citati: essere cioè esse di notevole ausilio diagnostico. Egli consiglia particolari artifici per ben omogeneizzare le colture e dà solo valore alle reazioni che si manifestano precocemente, perchè anche i sieri di bovini sani, tubercolotici ed actinomicotici sono capaci di agglutinare le sospensioni nel breve termine di 6—7 ore.

L'autore ha potuto dimostrare su 42 casi in esame che solo nel 60 % dei casi si ha agglutinazione ben manifesta a diluizioni da $^1/_{100}$ a $^1/_{600}$; alle agglutinazioni positive a tasso inferiore a $^1/_{50}$ egli crede di non dover attribuire alcun valore perchè anche sieri sani od immuni verso altre malattie che non siano l'actinobacillosi possono agglutinare a tali diluizioni ed in modo altrettanto evidente l'*Actinobacillus*. Nelle prove di deviazione del complemento Messieri ha avuto risultati analoghi. Questa prova di fronte ad un antigene totale del microorganismo col siero di bovini naturalmente infetti o sperimentalmente inoculati, e col siero di altre specie animali infettate di actinobacillosi hanno dato delle alte percentuali di positività, ma soltanto dopo almeno 3—4 mesi di malattia, e non hanno rivelato mai presenza di anticorpi actinobacillari nei sieri di animali infetti da altre malattie (tra cui un caso di actinomicosi) e nel siero di animali sani.

Affinità immunitarie e allergiche tra Actinomycetaceae e Mycobacteriaceae. — Nelle prove allergiche ed immunitarie si è cercata la convalida di quelle affinità tra i gruppi delle *Mycobacteriaceae* e delle *Actinomycetaceae* che erano state già da tempo prospettate e supposte in seguite agli studi sulla fine morfologia di questi due gruppi di microorganismi.

Petrone A. fin dal 1884 aveva visto chiaro nel problema quando affermava che il bacillo della tubercolosi non rappresenta che uno stadio di sviluppo dei comuni actinomiceti; questa affer mazione ha trovato in seguito conferma negli studi di quei molti morfologi e sperimentatori che dai diversi tipi del bacillo tubercolare riuscirono ad ottenere le

forme filamentose e clavate ed a riprodurne una forma raggiata in tutto simile a quella presentata dai comuni actinomiceti in condizioni di parassitismo (Metschnikoff, Coppen-Jones, Babes e Levaditi, Sanfelice etc.). Sartory, tra questi, è giunto anzi a concludere che le Oospore (= *Actinomyces*) acido-resistenti e il bacillo tubercolare non siano che una sola specie ed ha classificato il bacillo tubercolare insieme agli actinomiceti nel gruppo sistematico comune delle *Microsyphoneae*. La mancata conoscenza della forma saprositaria ambientale del bacillo della tubercolosi ci impedisce di portare a fondo questo problema secondo i concetti sopra espressi dai vari autori: in mancawra di ciò oggi, pur riconoscendo la stretta parentela di gruppo, si preferisce tenere il *Mycobacterium tuberculosis* distinto dai veri attinomiceti in una famiglia a è nello stesso ordine.

Le ricerche che gli autori hanno condotto sulle affinità allergiche e immunitarie di questi due gruppi di microorganismi sono molto numerose e complesse.

Fin dal 1903 Zupnik riportava che gli animali infettati con diverse specie di *Streptothrix* (= *Actinomyces*) reagiscono alle prove allergiche di fronte alla tubercolina; Feistmantel poco tempo dopo confermava questo reperto ed accertava anche che per rivelare lo stato allergico in questi animali portatori di un'actinomicosi sperimentale la tubercolina agisce a dosi anche notevolmente inferiori che non le diverse streptotricine.

Biagi nel 1904 ha infettato diversi animali da esperimento con 5 stipiti di actinomiceti e, sviluppatasi la malattia, ne ha saggiato la reattività di fronte alla tubercolina inoculata in peritoneo, studiando le reazioni termiche e le variazioni nel peso che subivano gli animali in seguito a questo trattamento. Sulla base dei suoi risultati egli ha concluso, contrariamente ai due autori sopra citati, che non si può assolutamente parlare in questi animali infetti con actinomiceti di una reazione alla tubercolina. Ed infatti nè gli aumenti di temperatura che talora si osservano negli animali ammalati non sono molto superiori a quelli che si riscontrano già negli animali normali, nè la curva del peso risente in modo apprezzabile delle iniezioni di tubercolina, e neppure avviene mai che qualche animale venga a morte per effetto tossico-allergico. Biagi ha studiato anche le modificazioni sierologiche che si producono negli animali infetti con actinomiceti e ha osservato che i sieri di questi animali non acquistano proprietà agglutinanti verso i bacilli tubercolari e che essi contengono solo ed esclusivamente delle agglutinine specifiche. Biagi ha quindi concluso che non esistono rapporti nè sierologici nè allergici tra il bac. tubercolare e i 5 stipiti di actinomiceti da lui presi in considerazione.

Queste conclusioni di Biagi sono state contraddette dalle ricerche di tutti gli autori che ebbero a studiare dopo di lui il problema con tecnica piú perfetta. Fra questi, Fritsche e Claypole, a mezzo di studi sierologici, segnalavano nel 1908 e nel 1913, l'esistenza di antigeni comuni tra le streptotricee acido-resistenti e non, da una parte, ed i bac. tubercolari ed altri batteri acidoresistenti dall'altra; Claypole giungeva in piú a differenziare gli antigeni omologhi ed eterologhi facendo variare nelle esperienze di fissazione del complemento la quantità dell'antigene. Bezançon e Griffon nei loro studi sull'allergia tubercolare notavano d'altro canto che l'iniezione di estratti di *Act. farcinicus* e di *Act. bovis* ha sull'organismo tubercoloso un'azione perfettamente identica a quella della tubercolina, solo che la streptotricina per esplicare una tale azione dev'esser usata in dose circa 25 volte maggiore della tubercolina. Nel 1927 Freund trovava una sostanza alcool-solubile specifica che era comune ai bacilli difterici e ad una *Streptothrix* da lui studiata.

Gli studi piú completi sull'argomento sono di data relativamente recente; riassumiano con una certa larghezza i risultati e le conclusioni a cui sono giunti Bretey, Goyal e Ninni.

Bretey (1933) studia da un lato le proprietà allergizzanti della *Nocardia eppingeri* (= *Act. eppingeri*), della *Nocardia asteroides*, della *Streptothrix sanfelicei* e d'una *Streptothrix S. T.* sp. di fronte agli allergeni specifici e dell'allergene tubercolare, e dall'altro il comportamento delle cavie tubercolose di fronte agli estratti di questi 4 ceppi di actinomiceti. Inocula nel derma delle cavie infette e delle cavie sane di controllo le diverse streptotricine e nocardine in dose di 0,1 cc. a una diluizione di $^1/_5$—$^1/_{10}$. Gli estratti sono preparati secondo il classico metodo di preparazione delle tubercolina vecchia di Koch. I risultati ottenuti sono i seguenti:

1) Le cavie normali di controllo rispondono in modo negativo alle prove intradermiche con estratti fungini.

2) Le cavie infette di actinomicosi rispondono invece alle prove in modo positivo; le reazioni non sono strettamente specie-specifiche, ma son sempre piú intense usando gli estratti omologhi che non quelli eterologhi. In questi animali la prova di MANTOUX con la tubercolina è negativa.

3) Le cavie tubercolose reagiscono sempre positivamente tanto alla tubercolina che alle diverse nocardine e streptotricine in esperimento; la prova tubercolinica ha però sempre maggiori caratteri congestivi di quella relativa alle iniezioni di estratti fungini; la reazione data da questi assume quasi sempre i caratteri di una papula bianca.

4) Le cavie tubercolose spesso muoiono in seguito alla inoculazione in peritoneo dell'estratto fungino.

5) Le cavie sensibilizzate con actinomiceti o con bac. tubercolari e reinoculate con una sospensione di *Nocardia* o di *Streptothrix* uccise in autoclave e triturate, riproducono nel punto sede della reinoculazione un tipico fenomeno di KOCH.

In una seconda serie di esperimenti (1933) lo stesso autore studia le proprietà untigeni di 3 ceppi di actinomiceti in confronto con quelle dei bac. tubercolari e paratubercolari. I 3 ceppi in studio sono la *N. eppingeri*, la *Str. sanfelicei* ed una *Str. T.* sp. Diversi conigli ricevono per via venosa in dosi successive e crescenti 20 mgr. di coltura fungina e dopo 15 giorni dall'ultima inoculazione forniscono il siero da saggiare nelle prove di fissazione e di flocculazione di fronte ad antigeni metilici preparati secondo la tecnica di BOQUET e NÈGRE. Nei riguardi delle prove di fissazione l'autore trova che la *Nocardia* e la *Streptothrix* in confronto dei bac. tubercolari e paratubercolari sono dei cattivi antigeni sia „in vitro" che „in vivo". Per quel che riguarda le prove di flocculazione trova poi che, mentre i sieri antitubercolare e antiparatubercolare in dosi equivalenti sono attivi tanto di fronte alla tubercolina e paratubercolina che alle nocardine e streptotricine, i sieri anti-*Nocardia* ed anti-*Streptothrix* sono invece attivi soltanto a contatto degli estratti corrispondenti e non flocculano a contatto della tubercolina e paratubercolina. Dati questi risultati l'autore si sente autorizzato a concludere che con la prova di flocculazione, e in generale con le reazioni antigene-anticorpo, si possa giungere a differenziare il gruppo delle *Actinomycetaceae* dal gruppo dei bacilli tubercolari-paratubercolari, che con le prime tante altre analogie d'ordine morfologico ed allergico presentano.

GOYAL (1937), riprendendo recentemente la questione, giustamente osserva che alcuni dei risultati negativi ottenuti da BRETEY siano dovuti a difetti di tecnica. Avendo presente che il periodo anteallergico è tanto piú lungo quanto meno patogeni sono i germi inoculati ed avendo pure presente che BRETEY ha condotto i suoi esperimenti con specie di actinomiceti poco o nulla patogene, GOYAL pensa che solo inoculando dosi piú forti di fungo e facendo gli esami dell'allergia cutanea e gli esami umorali a lassi di tempo maggiori si possano ottenere dei risultati veramente attendibili e anche molto piú significativi di quelli che non abbia potuto ottenere BRETEY nelle sue ricerche. GOYAL segue la stessa tecnica nella preparazione dell'estratto e degli antigeni fungini e, in linea generale, lo stesso ordine di ricerche già seguito da BRETEY; egli esperimenta però con un maggior numero di stipiti. L'elenco delle specie in studio comprende un ceppo di *N. eppingeri*, uno di *N. bovis*, una di *N. madurae*, 2 di *Act. asteroides eppingeri* e 6 di *Str.* sp. I risultati conseguiti possono essere cosí riassunti:

1) Le cavie a lungo sensibilizzate con le diverse *Streptothrix* diventano ipersensibili tanto alla streptotricina che alla tubercolina, contrariamente a quanto aveva affermato BRETEY, con differenze individuali nel grado dell'allergia.

2) La curva dell'ipersensibilità di questi animali infetti con actinomiceti (tracciata sulla base dei risultati numerici ottenuti con la misurazione dei diametri delle reazioni intradermiche) si eleva lentamente nei primi giorni che seguono l'inoculazione sensibilizzante, raggiunge l'acme tra il 5° e l'8° mese, resta stazionaria per diverse settimane, per quindi decrescere lentamente tra il 7° e l'8° mese. Tale comportamento è analogo a quello presentato dalla ipersensibilità tubercolinica negli animali inoculati con bacilli tubercolari poco o nulla virulenti (BOQUET e BRETEY, 1934).

3) Le prove allergiche crociate negli animali infetti da actinomiceti con le diverse streptotricine non danno risultati costanti e quindi non è possibile differenziare i diversi ceppi con le prove intracutanee dell'allergia provocata.

4) Le cavie tubercolose, come già aveva notato BRETEY, reagiscono positivamente

tanto alla tubercolina che agli estratti actinomicosici, per quanto le reazioni provocate siano sempre meno spiccate usando questi ultimi allergeni.

Questo primo gruppo di ricerche completa e conferma i risultati già ottenuti da Bretey. Un secondo gruppo diretto a dimostrare un eventuale potere tossico della streptotricina inoculata nel sottocute delle cavie tubercolose ha sortito esito dubbio. Scorrendo infatti i protocolli si trova che mentre un solo cc. di tubercolina diluita $^1/_{20}$ inoculata nel cavo peritoneale di cavie tubercolose ne ha condotte a morte 6 su 13, ben 4 cc. di streptotricina diluita $^1/_5$ per via sottocutanea si sono dimostrati invece inoffensivi per questi stessi animali tubercolosi. E' da notare che anche le cavie sensibilizzate con i diversi stipiti di *Actinomyces* non hanno reagito in tale prova in modo regolare di fronte agli estratti specifici sia omologhi che eterologhi. Nei pochi casi positivi il comportamento della reazione è stato però identico a quello che si può osservare nelle cavie tubercolose in seguito all'inoculazione di tubercolina. Nel valutare queste conclusioni va tenuto presente che Goyal dà significato positivo solo alle reazioni termiche nette che comportano una elevazione di temperatura almeno superiore ai 0,8° C.

Goyal dimostra inoltre che le streptotricee inoculate nel sottocute delle cavie tubercolose danno il fenomeno di Koch, in dosi però superiori a quelle che necessitano per produrlo con i bac. tubercolari.

Sullo schema già tracciato da Bretey, l'autore va inoltre alla ricerca di eventuali rapporti sierologici nei riguardi dell'esistenza di antigeni comuni tra *Streptothrix*, *Mycobacterium* e *Corynebacterium*. Egli trova che l'antigene *Streptothrix* è attivo sui sieri antitubercolare, antiparatubercolare ed antidifterico tanto quanto gli antigeni specifici corrispondenti; che nei sieri immuni, anche con la prova di assorbimento, non è possibile dimostraze tanto per i bacilli tubercolari dei mammiferi che per le *Streptothrix*, degli anticorpi strettamente specifici; fatti questi che parlano in favore dell'*esistenza di un antigene comune ai bacilli tubercolari ed alle specie di Streptothrix sperimentate*. D'altro canto come controllo è risultato che la deviazione del complemento con antigeni od anticorpi preparati da bacilli che non hanno rapporti coi bacilli acido-resistenti e con le *Streptothrix* è stata sempre nulla o soltanto molto debolmente positiva.

Ninni (1937) infine, in uno studio comparativo fatto sulla azione premunente e vaccinante che hanno sulle cavie diverse sostanze e microorganismi capaci di produrre tessuto granulomatoso similtubercolare rispetto alla infezione con bacilli tubercolari vivi o uccisi al calore e con B.C.G., ha pretrattato gli animali in esperimento con 2 cc. di brodocoltura di due stipiti di *Actinomyces* sp. per via peritoneale ogni 15 giorni per 6 volte consecutive, e 15 giorni dopo l'ultima inoculazione li ha infettati con bac. di Koch di tipo umano per via sottocutanea insieme ai relativi controlli non trattati in precedenza. Questo autore ha osservato negli animali premuniti un numero sensibilmente minore di tubercoli agli organi addominali ed una sopravvivenza di questi animali sensibilmente maggiore di quella dei controlli (40—70 giorni di piú).

Questi risultati hanno fatto concludere a Ninni che il tessuto granulomatoso aspecifico, data la sua funzione fissatrice ed eventualmente distruggitrice sul bacillo di Koch, conferisce agli animali un sensibile aumento di resistenza all'infezione sperimentale e che, ciò che a noi piú interessa, la resistenza data dagli *Actinomyces* è sempre piú spiccata che non quella conferita da altri germi tassonomicamente piú lontani dal bac. di Koch. „*L'Actinomyces* è perciò, tra gli agenti aspecifici studiati" (polvere di licopodio, *Candida F.*, *Candida mycotoruloidea* Redaelli, *Actinomyces* Lomello 1 e 2), „l'unico capace di prolungare sensibilmente la vita degli animali infettati con bac. di Koch". Tale azione è d'altronde sempre inferiore a quella esplicata dai bacilli di Koch uccisi al calore ed ancor piú a quella esercitata dal B.C.G.

Bibliografia

Adaut M. e Spehl P., Ann. Derm. Syph., (5), 429, (1935). — Artom M., Giorn. It. Derm. Sif., **71**, 1516, (1930). — Babes B. e Levaditi, C. R. Acad. Sci., (1897); Arch. Méd. Expér., 33, (1897). — Bailly A., Univ. Strasbourg Fac. Pharm., **4**, 1, 1921. — Biagi N., Sperimentale **58**, (4), 665, (1904). — Bolognesi G. e Chiurco G. A., Arch. Biol., **1**, (5—6), (1925). — Bory L. e Flurin, Tesi (Flurin) (1911); C. R. Soc. Biol., 6 maggio (1911). — Bretey J., C. R. Soc. Biol., **113**, 53, 1933; C. R. Soc. Biol., **113**, 350, (1933). — Chauffard e

Troisier, Rev. Méd., 10 novembre (1909). — Clairmont, Chirurg. Kongressverhandl., S. 127, (1922). — Claypole E. J., Arch. Intern. Méd., **14,** 104, (1913); Jour. Exp. Med., **17,** 99, (1913). — Colendoli E., Ann. Ig. Sper., **15,** 113, (1905). — Coppen-Jones, Centralbl. Bakt., **17,** 70, (1895). — Dessy G., Boll. Ist. Sier. Mil., **5,** 399, (1926). — Dick F. G. e Tunnicliff R., Jour. Inf. Dis., **23,** 183, 1918). — Donna A, di, Ann. Ig. Sper., **14,** 449, (1904). — Ferrari G. e Filippi P., de, Clin. Med. It., N.S. **67,** (1936). — Flu P. C., Mededeel. van den Burgel. geneeskund. dienst in Nederl. Indië, **3,** (1914). — Freund J., Jour. Immunol., **13,** (2), (1927). — Fritsche E., Arch. Hyg., **65,** 181, (1908). — Fuchs E., Centralbl. Bakt., I, **33,** 649, 1903). — Galli G., Boll. Mem. Soc. Piemont. Chir., **1,** (11), (1931). — Garnier e Bory L., Boll. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 28 aprile (1911). — Goyal R. K. Ann. Inst. Pasteur, **59,** (1), 94, (1937). — Hübschmann K., Arch. Derm. u. Syph., **130,** 341, (1921). — Lasserre J., Thèse Univ. Toulouse, (1904). — Lignières J. e Spitz G. Bull. Soc. Centr. Méd. Vétér., (1902); Rev. Soc. Med. Argent., **10,** 5, (1902). — Lisi F., Volume per le onoranze al Prof. Pepere, Cappelli Bologna (1936), 321 pp. — Magnusson H., Acta Pathol. Microbiol. Scandin., (1928). — Messieri A., F. Lega, Faenza (1931), 106 pp. — Nakajama Heiyiro, Arch. Hyg., **58,** 207, (1908). — Ninni C., Arch. Biol., (1938). — Ping-Ting-Huang, Derm. Woch., **97,** 1679, (1933). — Ravaut P.e Pinoy E., Ann. Derm.-Syph., IV, **10,** 417, (1909). — Redaelli P., Boll. 1st. Sier. mil., **7,** (5), 239, (1928). — Roger H. e Bory L., Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, **27,** 319, (1909); Arch. Méd. Exp. Anat. Path., **21,** 229, (1909). — Roger H., Bory L. e Sartory A., C. R. Soc. Biol., **66,** 301, (1909); ib., **66,** 301, (1909). — Roger H., Sartory A. e Bory L., Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 149, (1909); ib. 727, (1910). — Ronchese F., Arch. Derm. a. Syph., **20,** 1, (1929). — Sampietro G., Ann. Ig. Sper., (3), 391, (1908). — Sanfelice F., Centralbl. Bakt., **36,** 355, (1904); Boll. 1st. Sier. Mil., **2,** 1, (1921). — Sartory A., Arch. Oto-rhinolaryngol., (1912); Bull. Sci. Pharmacol., **23,** 12, (1916). — Sartory A. e Bailly A., Clinique et laboratoire, Paris (1923), 328 pp. — Schoukéwitch I., Arch. Sc. Biol. Inst. Imp. St. Petersbourg, **15,** (1—2), 1, (1908). — Tarantelli, Riforma med., (20), (1934). — Walcher, Mitt. a. d. Grenz. d. Med. Chir., **36,** (1), (1923). — Yazbek A. K., Tesi in med.-chir., S. Paulo 160 pp. (1920). — Zupnik, Deutsch. Med. Woch., (5), 208, (1905).

Ulteriori osservazioni su *Blastocystis* della rana e conferma della natura e posizione sistematica dell'Alga

per

P. Redaelli e R. Ciferri.

(*dal Centro di micologia umana e comparata, Istituto di anatomia patologica della R. Università di Pavia*)

Con le tavole XXVII, XXVIII e XXIX.

(17.VIII.1939.)

Introduzione

Dopo le nostre osservazioni ed i nostri rilievi (1936) dai quali avevamo desunto alcune argomentazioni a favore di una sistemazione di *Blastocystis* (*Bl.*) tra le Alghe acloriche (prospettando una affinità con quelle dalla Fam. Protothecaceae), sono apparsi alcuni studi stranieri, due dei quali hanno preso in considerazione la nostra ipotesi sia pure per escluderla. Poichè in questi ultimi tempi noi abbiamo esteso lo studio di questo enigmatico protista alle forme che risultano commensali dell'intestino di animali a sangue freddo (e particolarmente della *Rana esculenta*), prendiamo l'occasione di riferire queste nostre osservazioni nuove e di discutere le conclusioni degli studi più recenti sopra ricordati.

Uno di questi studi è di Ivanic (1936 e 1937); a proposito di alcune osservazioni sulla struttura nucleare di *Bl.* dell'uomo, l'Autore afferma che detta struttura e la modalità di divisione sono nettamente identiche a quella dei più bassi protisti e dei più bassi protozoi. A proposito di una forma di *Bl.* osservata nell'ampolla rettale della rana l'Autore crea una specie a se col nome di *Blastocystis ranarum*. Noi non ci possiamo soffermare a lungo sulle argomentazioni svolte da Ivanic perchè una discussione forse non del tutto fertile ci porterebbe troppo per le lunghe: noi abbiamo l'impressione che là dove l'Autore descrive delle forme plasmodiali come stadi propri di *Bl.* egli possa aver avuto per le mani organismi diversi da quelli che andiamo studiando.

Un secondo lavoro è quello del russo Newiadomski (1937) il quale, alla ricerca delle modalità di formazione delle cellule neoplastiche in genere ed in particolare di quelle presunte che compaiono attorno ai sacchetti di collodion introdotti nel sottocutaneo di animali e contenenti materiale neoplastico, ha cercato di osservare la possibilità di sviluppo di neoformazioni simili a tumori da parte di ultrafiltrati di microrganismi ben noti come parassiti dell'uomo. A questo scopo egli ha introdotto *Bl.* in coltura pura in sacchetti di collodion, a lor volta introdotti nel sottocutaneo di animali da esperimento (cavia). L'Autore dice di essere riuscito a dimostrare la presenza di stadi ultrafiltrabili di *Bl.* (le cui forme passerebbero attraverso i finissimi pori della membrana di collodion). Le forme filtrate avrebbero dato nei tessuti circostanti il sacchettino, elementi affatto simili alle più tipiche forme di *Bl.*, di indubbio accrescimento infiltrativo con modalità caratteristiche delle cellule neoplastiche.

Newiadomski sostiene essere facile ottenere colture pure di *Bl.* dalle feci di uomo, di ratti e di topi. Una piccola quantità di feci è portata in sol. fisiologica con siero di cavallo (10/1) a pH 7,2 ed alla temperatura di 37—39° C., facendo trapianti ogni quattro giorni; quindi tali colture sono filtrate attraverso candele porose Seitz-Chamberland (L. 2) ottenendo, dopo 1—2 mesi, delle colture pure di *Bl.* In tal modo sarebbe dimostrata la presenza, nel ciclo vitale di *Bl.*, di forme submicroscopiche capaci di filtrare e quindi anche capaci di passare attraverso una membrana di collodio.

Noi abbiamo riferito quasi semplicemente per la cronaca i reperti di Newiadomski: non possiamo accingerci ad una critica serrata perchè non abbiamo ripetuto i suoi esperimenti che in parte. Sino ad ora, infatti, ci siamo limitati al controllo degli esperimenti circa l'esistenza di elementi filtrabili del protista attraverso candela. Gli esperimenti sono stati fatti con l'aiuto dell'allievo Pier Luigi Mariani nel laboratorio di Pavia; materiale fecale dell'ampolla rettale della rana, seminato in liquido ovomucoide più siero inattivato di cavallo, ha dato colture che dopo 12 giorni erano particolarmente ricche di forme sporulanti di *Bl.*; queste colture, ed altre più vecchie particolarmente ricche di forme in scissione, come colture di *Bl.* di orgine umana, sono state filtrate attraverso candele porose Chamberland L. 2; il filtrato è stato conservato per tre mesi, in parte integro, in parte passato in nuovo materiale colturale (liquido ovomucoide più siero inattivato di cavallo a temp. ambiente ed a 37°C.): l'esame dei numerosi tubi di saggio eseguito a tempi diversi e fino a tre mesi dall'esperimento non ha permesso di vedere dimostrata l'affermazione di Newiadomski.

Il terzo contributo sulla natura di *Bl.* è quello di Schilling e Santoni (1936): questo lavoro merita particolare attenzione. Gli autori portano la loro osservazione su *Bl.* della rana: essi fanno innanzitutto uno studio citologico del protista ed affermano che il caratteristico aspetto a castone dei nuclei inseriti nel protoplasma attorno al corpo centrale, deve considerarsi generalmente come un artefatto; più frequentemente il materiale nucleare (che non riproduce mai un vero e proprio nucleo come quello delle amebe) è in forma di granuli sparsi nel tenue strato di protoplasma che avvolge il corpo interno; quest'ultimo si colora debolmente con la soluzione di Lugol e quindi non contiene, oppure solo in tracce, sostanze glicogenetiche. L'involucro mucoso del protista non sarebbe sempre nè facilmente evidente.

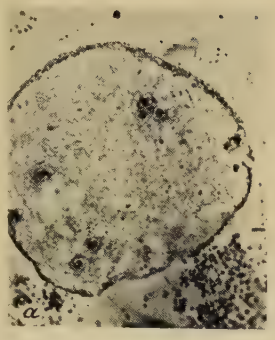
Lo studio della moltiplicazione del protista nelle colture, ha mostrato evidente il fenomeno della divisione diretta per amitosi ed un processo di sporulazione non dissimile da quello già visto da autori in precedenza; Schilling e Santoni, notando che il corpo interno non partecipa alla sporulazione la quale avviene solo nello strato periferico di protoplasma, dal quale le spore che si formano protrudono verso l'esterno trasformando il corpo del protista come una mora grossolanamente verrucosa, ritengono che si debba trattare di *ectospore* anzichè di *endospore* e quindi di *ectosporulazione* anzichè di *endosporulazione*. Il fenomeno non è stato visto dai due Autori tra le forme parassite dell'intestino della rana: ritengono tuttavia che, sopratutto dopo le osservazioni di De Beaurepaire Aragaõ, non ci sia da dubitare che la sporulazione di *Bl.* avvenga anche nel sustrato naturale.

Schilling e Santoni non sono convinti che le formazioni descritte da noi (1936) nelle colture di *Bl.* dell'uomo appartengano al ciclo di sviluppo del protista. Passano quindi a confutare la nostra opinione circa la possibile sistemazione di *Bl.* tra le Alghe: tentano di coltivare il protista secondo il metodo di Krueger per le Protothecaceae della linfa di alberi frondiferi; il risultato è negativo il che fa loro affermare che l'avvicinamento di *Bl.* a questa famiglia di alghe acloriche è privo di essenziale appoggio. Aggiungono ancora che nessun Autore ha descritto per il microorganismo in studio i cromatofori presenti nella maggior parte delle alghe ed anche ciò contrasta con la opinione di Ciferri e Redaelli.

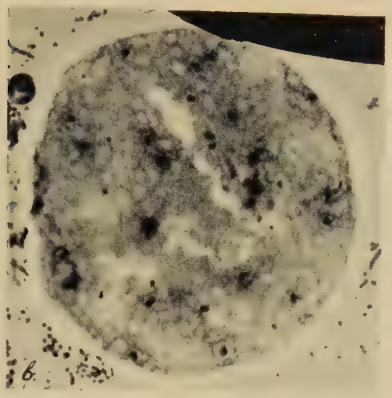
Secondo Schilling e Santoni il protista sarebbe la forma vegetativa di un microorganismo che si situa in una posizione intermedia tra i funghi, particolarmente i lieviti, ed i protozoi.

Noi, ripetendo le ricerche di Schilling e Santoni sul protista dell'intestino degli animali a sangue freddo, abbiamo riveduto in modo esatto quanto hanno descritto i due Autori succitati; abbiamo tuttavia l'impressione che non sempre l'interpretazione che essi danno dei fatti morfologici osservati possa essere accettata; l'impressione più viva è, poi, che essi non abbiano letto accuratamente il nostro lavoro del 1936, altrimenti non si sarebbero accontentati di confutare la nostra ipotetica affermazione dell'appartenenza di *Bl.* alla Alghe con la prova colturale di Krueger e con l'affermazione che nessun autore ha mai osservato nel protista i cromatofori propri di molte alghe.

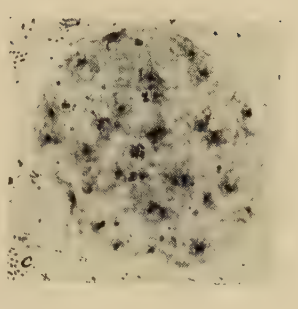
Il recente lavoro di Reyer (1939) sull'accrescimento di *Bl.* nelle colture è, analogamente, molto interessante: l'Autore ha studiato il protista commensale dell'intestino di animali a sangue caldo (uomo, ratto) ed ha curato con molta attenzione lo sviluppo di singoli elementi in modo da poterne accertare la modalità della scissione, della gem-



a)

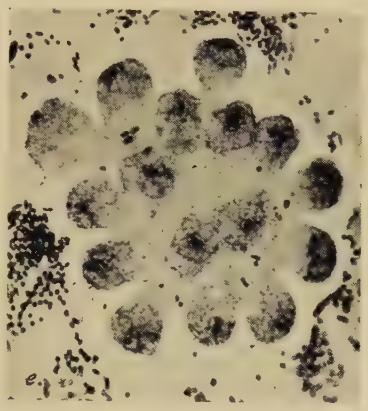


b)

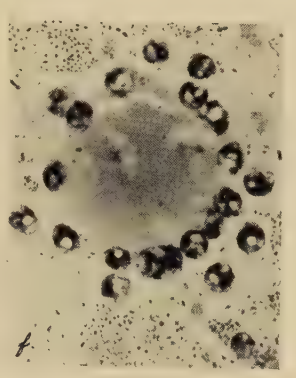


c)

d)



e)



f)

Il protista *Blastocystis* della rana comune: aspetti della evoluzione del processo di endosporulazione:

a) *Blastocystis* in riposo, come citologicamente si presenta nelle condizioni più comuni;
b) moltiplicazione e regolare disposizione dei granuli nucleari nello strato protoplasmatico;
c) lo stesso fenomeno di cui in *b*), maggiormente accentuato e con addensamento protoplasmatico attorno ai granuli cromatinici;
d) maggiore differenziazione delle endospore derivate dall'addensarsi del protoplasma attorno ai granuli cromatinici con inizio dell'aspetto moriforme della cellula madre;
e) tipica protrusione delle endospore formate nell'alone protoplasmatico di *Blastocystis* („ectosporulazione" di Schilling e Santoni; aspetto profondo, citologico della „multiple Knospung" seconde Reyer).
f) deiscenza terminale delle endospore completamente formate, loro liberazione attorno al residuo della cellula madre rappresentato da tracce di protoplasma e del corpo interno;

(tutte le preparazioni sono state colorate con May-Gruenwald-Giemsa e fotografate con il Micr. Universal Reichert, a vari ingrandimenti).

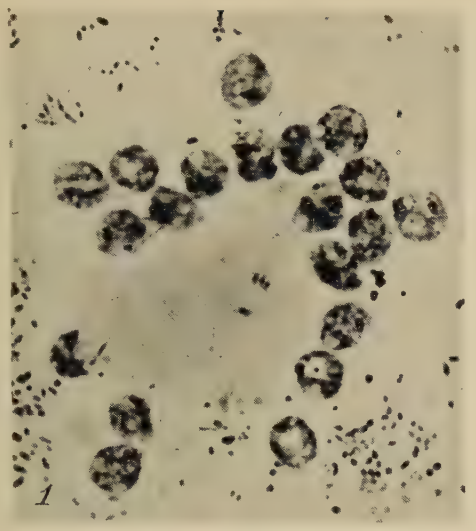


Fig. 1.

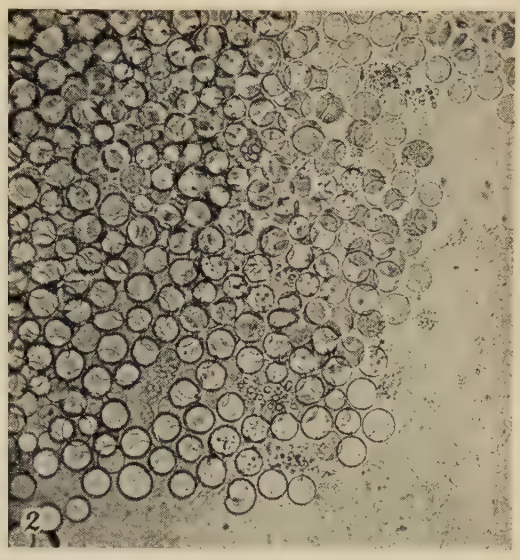


Fig. 2.

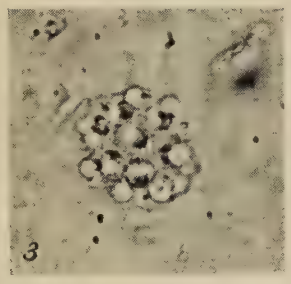


Fig. 3.

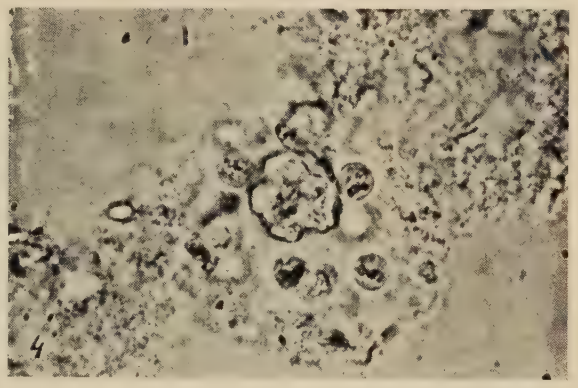


Fig. 4.

Fig. 1. tipico fenomeno di deiscenza delle endospore in *Blastocystis* della rana (da coltura in liquido ovomucoide, dopo 6 giorni di sviluppo a temp. ambiente ed al buio).

Fig. 2 *Blastocystis* della rana in coltura in liquido ovomucoide dopo 6 giorni; si noti l'assenza di scissioni dirette dei cistoidi e la presenza di molteplici sporulazioni rappresentate dall'aggruppamento degli elementi più piccoli.

Fig. 3. cellula di *Blastocystis* fotografata a fresco in materiale di coltura (liquido ovomucoide dopo 6 giorni) e sorpresa in un momento immediatamente antecedente alla deiscenza delle spore; tale figura corrisponde alla figura *e*) della tavola precedente dove l'elemento è stato studiato citologicamente (fissato e colorato con May-Grünewald-Giemsa).

Fig. 4. fenomeno di endosporulazione di *Blastocystis* alla fase finale di deiscenza delle spore osservato nel contenuto intestinale della rana e fotografato a fresco.

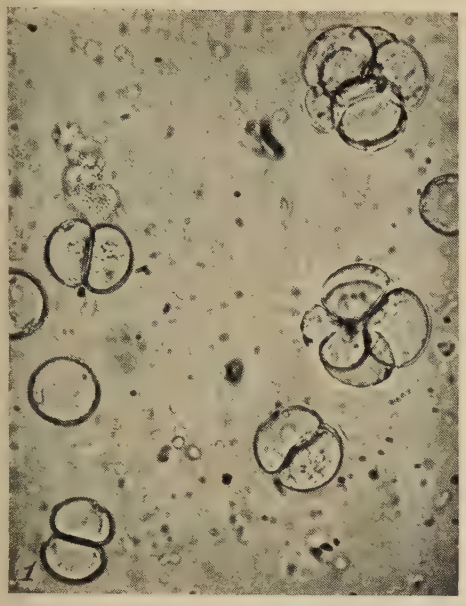


Fig. 1.

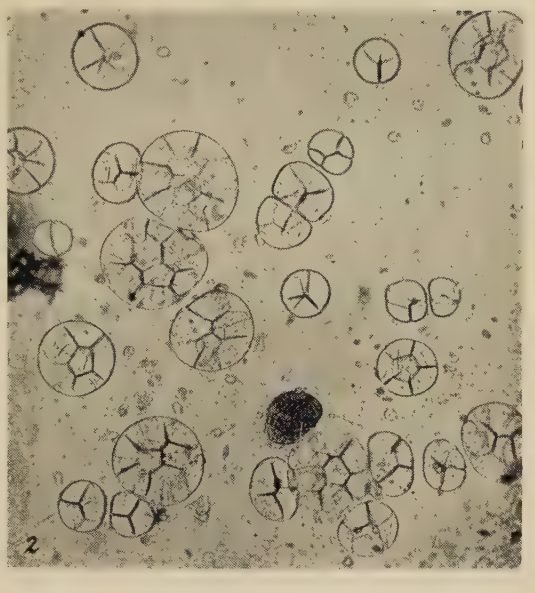


Fig. 2.

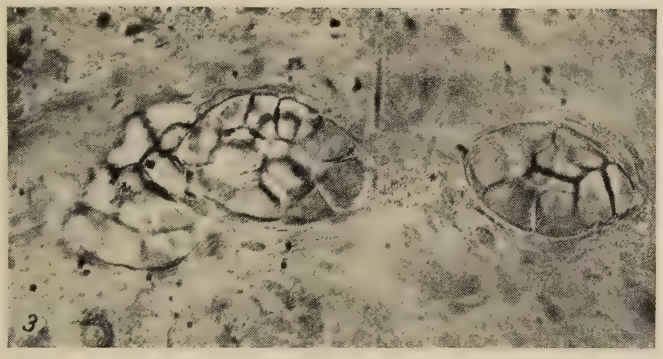


Fig. 3

Diversi aspetti del fenomeno di moltiplicazione di *Blastocystis* per scissione diretta amitotica:

Fig. 1 e 2. divisione per scissione diretta amitotica di *Blastocystis* in un sottile strato (tra due vetrini) di liquido ovomucoide agarizzato al 4 per mille. La viscosità del mezzo fa si che per divisioni successive si formino delle masserelle caratteristiche.

Fig. 3. lo stesso fenomeno di cui sopra osservato „in vivo" nel contenuto mucoso dell'intestino terminale della rana.

mazione unica o multipla („einfache" e „multiple Knospung" come egli si esprime). Non ci sembra che egli abbia compiuto sul materiale da lui esaminato uno studio citologico; per questo, l'appunto fondamentale che si può fare all'Autore, è quello di avere apprezzato l'evoluzione del microorganismo nei suoi vari aspetti di moltiplicazione solo dalle apparenze esterne, ignorando ciò che avveniva nell'interno. Secondo le osservazioni di Reyer, la moltiplicazione in coltura di *Bl.* avverrebbe per due modalità: la prima a mezzo di una divisione binaria per scissione, la seconda per una modalità di gemmazione unica o multipla. Sarebbe anche visibile una frammentazione del corpo di *Bl.* in porzioni diverse. L'Autore sostiene di non aver visto il processo della sporulazione endogena. La posizione sistematica di *Bl.* sarebbe nei Fungi Imperfecti.

Le nostre attuali ricerche, portate su materiale di animali a sangue freddo, hanno lo scopo di rivedere la questione sotto molti punti di vista e di difendere la nostra ipotesi formulata nel 1936 circa la possibile sistemazione di *Blastocystis* nelle Alghe. Lasciando da parte di lavori di Ivanic e di Newiadomski che non ci interessano direttamente e sui quali è già stato formulato un nostro giudizio, prendiamo in considerazione essenzialmente il lavoro di Schilling e Santoni e quello di Reyer. Le conclusioni di questi due lavori sono in gran parte apparentemente disparate: mentre i tre autori sono concordi nell'affermare che il protista in coltura e nel sustrato naturale si moltiplica per scissione (fenomeno che non era stato sino ad ora nettamente dimostrato e che noi stessi nel 1936 avevamo ancora messo in dubbio), non appaiono della stessa opinione circa l'esistenza di una moltiplicazione per sporulazione. Schilling e Santoni illustrano una chiara sporulazione che essi interpretano come „ectosporulazione"; Reyer nega un simile fatto ed illustra una modalità di gemmazione. Noi crediamo che gran parte delle apparenti discordanze sieno dovute al fatto che gli Autori hanno lavorato su materiale molto diverso; la nostra esperienza fattasi dapprima su materiale di provenienza da animali a sangue caldo e completatasi ora con lo studio del protista di animali a sangue freddo, ci permette di affermare che, mentre molte divergenze possono basarsi proprio su questo fatto (in dipendenza di aspetti biologici acquisiti dalla vita in ambienti tanto differenti), molte altre possono essere appianate ed accordati i reperti se si pensa che non sempre gli Autori succitati hanno compiuto lo studio del protista mettendosi nelle stesse condizioni e sotto ogni punto di vista; sopratutto al Reyer, come si è già detto, si può muovere l'appunto di non aver studiato il microorganismo dal lato citologico.

Nuove osservazioni personali

Già all'inizio dei nostri studi su questo argomento, l'indagine del contenuto intestinale di gechi (*Tarantola mauretanica*) e di lucertole eseguito da uno di noi a Catania, aveva dato risultato negativo, almeno al semplice esame diretto delle feci. Riprendendo lo studio in questi ultimi tempi (1937) abbiamo esaminato il contenuto intestinale di ramarri, lucertole, bisce d'acqua, rane verdi, rane comuni (*Rana esculenta*). Solo in queste ultime ci è stato dato di poter riscontrare in modo nettamente riconoscibile ed in quantità da non lasciar alcun dubbio, anche ad un primo semplice esame a fresco delle feci, la *Blastocystis* nell'ampolla intestinale terminale. Le rane sono state acquistate in notevole quantità dai venditori ambulanti. All'esame di una prima serie di individui il reperto nettamente positivo si è avuto (sempre all'osservazione diretta delle feci) in 3 su 20; in altre 6 rane dello stesso gruppo il reperto era cosí esiguo da lasciare dei dubbi sulla vera natura delle forme osservate; le feci di queste 6 rane, seminate in liquido ovomucoide con siero inattivato di cavallo, diedero, dopo pochi giorni, reperto nettamente positivo. In ultima analisi 45 rane su 100 presentano in modo direttamente visibile le *Bl.*; ma

non è improbabile che con un attento, ripetuto esame colturale, tutte le rane appaiano portatrici del protista. E' stato osservato il seguente fenomeno: le rane acquistate sono state conservate in un acquario con fondo sabbioso e con scarsa quantità d'acqua; dopo 15 giorni di permanenza in tale ambiente, tutte le 200 rane di questo acquario presentavano in modo direttamente dimostrabile ed in quantità evidente le *Bl.*,; è stato inoltre notato che quando il contenuto intestinale della ampolla rettale di questi animali appariva giallastro, semifluido, mucoso, il reperto di *Bl.* era veramente imponente; quando lo stesso contenuto appariva compatto, verdastro, difficilmente dissolventesi nel liquido d'esame, ricco di granelli di sabbia e di svariati corpi estranei con scarsezza di muco, i reperto del protista era minore.

Queste constatazioni lasciano pensare a due fatti: il primo che la cattività degli individui e l'ambiente limitato, facilitino la diffusione del protista e l'infestione di tutti gli individui stessi. A questo proposito diciamo subito che la coltura in liquido ovomucoide della sabbia e dell'acqua dell'acquario non ci ha dimostrato in essi la presenza di *Bl.*; anche l'esame diretto dello stesso materiale non ci ha permesso di rintracciare *Bl.* nelle forme che noi conosciamo. Ciò lascerebbe supporre che la forma del contagio sia diversa e non facile a riconoscersi ed a coltivarsi. Il secondo fatto è che l'aspetto del contenuto intestinale delle rane maggiormente infestate, diverso da quello di soggetti normali, lascia prospettare l'ipotesi che *Bl.* possa esercitare un'azione specifica nell'intestino della rana; è noto che per altri animali e per l'uomo si discute della azione patogena di questo protista e sulle manifestazioni morbose da esso determinate.

* * *

Noi riteniamo che uno degli ostacoli alla più precisa comprensione del ciclo e della natura di *Bl.* sia quello di non poter ottenere il protista in coltura pura. Questo argomento è già stato da noi a lungo trattato nella prima serie di studi a proposito di *Bl.* dell'uomo: allora avevano escogitato parecchi mezzi per giungere allo scopo, ma senza risultato. Gli stessi esperimenti sono stati ripetuti per *Bl.* delle rane; a questi stono state aggiunte altre prove che riferiamo in sintesi perchè il risultato definitivo non è stato positivo.

Il miglior terreno di coltura per *Bl.* si è mostrato il *liquido ovomucoide con l'aggiunta di siero inattivato di cavallo*; questo terreno da noi usato per *Bl.* dell'uomo è stato poi usato e trovato efficace anche da Schilling e Santoni (sia pure senza l'aggiunta di siero animale) ed è stato da noi nuovamente trovato ottimo anche per *Bl.* della rana. Le colture sono ottime dopo qualche giorno (2—6 giorni dalla semina) a temp. ambiente ed al buio; sono meno attive a 30°C, sono prive di *B.* a 37°C. L'„optimum" di sviluppo si ha generalmente da 18 a 25°C.

Come terreni atti per il tentativo di ottenere *Bl.* in coltura pura, sono stati usati sustrati solidi (siero di cavallo solidificato, terreno di Petragnani e di Petrof con aggiunta di siero inattivato di cavallo o di sangue defibrinato di coniglio in piccole dosi, terreno di Dobell e Laidlaw e di Boeck e Drbohlaw, terreni ordinari con aggiunta in superficie di siero di cavallo o di sangue defibrinato di coniglio); terreni semisolidi (liquido ovomucoide agarizzato al 4 per mille o gelatinizzato al 6%); sustrati liquidi (liquido ovomucoide con l'aggiunta di sostanze coloranti inibitrici lo sviluppo di schizomiceti).

Sui sustrati solidi in aerobiosi, in seminanaerobiosi ed in anaerobiosi *Bl.* non si è mai sviluppato: nei terreni semisolidi l'innesto per infissione del materiale fecale non permette una deguato sviluppo di *Bl.* che tuttavia vedremo moltiplicarsi, sia pure esiguamente nelle microculture in materiale semisolido ed in microaerobiosi. Anche il

procedimento di Bosch (1924) che vedrebbe inibito lo sviluppo dei germi associati con la coltivazione del materiale fecale in siero umano inattivato a 55°C. e con l'aggiunta di cloruro di sodio al 0,5% (analogamente in siero di coniglio) non ci ha dato risultati soddisfacenti.

L'esperimento seguente, basato sulla possibilità di una inibizione dei germi fecali da parte di coloranti aggiunti ai terreni liquidi, nel tentativo di cercare un equilibrio che permettesse la vita e la moltiplicazione di *Bl.* sempre allo scopo di ottenere colture pure, non ha dato, in ogni caso risultati positivi: è stato seminato direttamente materiale dell'ampolla rettale di rane molti ricco di *Bl.* in liquido ovomucoide con l'aggiunta di soluzioni variamente diluite di violetto di genziana e di verde di malachite; è stato anche seminato nello stesso modo materiale proveniente da precedenti colture di *Bl.* I risultati sono segnati nella seguente tabella:

materiale sperimentato		liquido ovomucoide più violetto di genziana				liquido ovomucoide più verde di malachite				controllo in liq. ovom. semplice
		1/10.000	1/100.000	1/10.000.000	1/100.000.000	1/10.000	1/100.000	1/10.000.000	1/100.000.000	
mater. fecale rana N. 26	*Bl.*	—	—+	+	++	—	—	—	+	++++
	batt.	—	++	+++	+++	—	++	++	+++	++++
mater. fecale rana N. 27	*Bl.*	—	—+	++	++	—	—	—	+	++++
	batt.	—	++	++	+++	—	+	+	++	++++
mater. da colt. *Bl.* rana N. 24	*Bl.*	—+	—+	++	+++	—	—	—+	+	+++
	batt.	—	++	++	+++	—	+	+	++	+++

Come appare dalla tabella, non è possibile trovare una soluzione dei colori che inibisca lo sviluppo degli schizomiceti associati permettendo la moltiplicazione di *Bl.*; il verde di malachite si è dimostrato maggiormente inibente sullo sviluppo di *Bl.* che non il violetto di genziana.

Sempre con l'intento di ottenere del protista colture pure, si è proceduto a saggi di isolamento di singoli elementi di *Bl.* a mezzo del micromanipolatore; è stato usato il classico apparecchio di Peterfi, ma sopratutto il micromanipolatore di superficie (Koblemueller e Vierthaler) cui, al posto dell'ago metallico sono state applicate con un semplice accorgimento di tecnica, pipette con apertura distale variabile da 20 a 50 μ. A mezzo di queste pipette si trasportava, sotto il controllo del microscopio, un certo quantitativo di elementi di *Bl.* contenuti in una goccia di coltura in liquido ovomucoide, in successive varie goccie dello stesso sustrato sterile con lo scopo di diluire e di lavar successivamente gli elementi del protista; si è giunti cosí ad avere, in goccie di terreno nutritivo, un solo elemento di *Bl.*; questi veniva conservato in una goccia pendente oppure veniva trasportato su un sottile strato di liquido ovomucoide agarizzato o gelatinizzato, oppure immesso in tubi da saggio con liquido ovomucoide ordinario. Per quanto si potesser

controllare nei giorni successivi gli elementi di *Bl.* isolati e trasportati, questi non diedero segni di vita e di moltiplicazione. In modo particolare eravamo riusciti ad isolare in goccie pendenti elementi di *Bl.* che mostravano chiaro il fenomeno della endosporulazione (almeno negli stadi iniziali): ma la forma isolata e trasportata non ha mostrato l'ulteriore evoluzione del processo moltiplicativo.

La nostra impressione, a questo rigardo, anche per aver constatato alcune modificazioni nella forma degli elementi trasportati, è che i trattamenti meccanici subiti alterino il corpo di *Bl.* sorpratutto nei suoi rapporti con i liquidi circostanti e con la tensione di questi, in modo che è possibile ritenere che le cellule trasportate diventino sofferenti ed incapaci di riprendersi. Oltre a ciò si è constatato che, nonostante il lavaggio subito dagli elementi di *Bl.* trasportati nelle varie goccie, non è possibile praticamente liberarli dagli schizomiceti che sono aderenti alla loro superficie, spesso trattenuti dal più o meno sottile strato mucoso che avvolge il protista. Cosicchè anche qualora si fosse riuscito a far rivivere elementi di *Bl.* isolati, lo scopo di ottenere colture pure sarebbe ugualmente fallito.

E' già stato detto in precedenza che il tentativo di ottenere colture pure di *Bl.* col procedimento della filtrazione per candela secondo le indicazioni di Newiadomski è rimasto senza risultato positivo. Anche per questo, cosí, tutti i mezzi escogitati non hanno raggiunto lo scopo; pertanto lo studio citologico ed evolutivo del protista non può essere che fatto in colture miste per l'associazione di altri microorganismi, prevalentemente di schizomiceti.

Studi morfologici e citologici su Blastocystis della rana

Diremo subito che, per ciò che si riferisce alle modalità di riproduzione del protista tanto nell'ambiente naturale (ampolla rettale della rana) come in coltura, due ci sono apparsi i procedimenti fondamentali: 1) la *scissione diretta dei cistoidi*; 2) la *sporulazione* (*endosporulazione*). I due procedimenti ci sono apparsi morfologicamente non differenti da come sono stati descritti da Schilling e Santoni [1]).

Questi due procedimenti si possono osservare tanto nell'ambiente naturale come

---

[1]) I procedimenti di tecnica per l'esame furono i seguenti:

a) esame a fresco di un'ansata di contenuto dell'ampolla rettale della rana, tenuamente stemperato in una goccia di liquido ovomucoide.

b) l'esame a fresco di grosse goccie di coltura di *Bl.* in liquido ovomucoide con l'aggiunta di siero inattivato di cavallo.

c) allestimento di preparati fissati e colorati: il materiale intestinale diluito in liquido ovomucoide veniva tenuamente disteso su di un portaoggetti accutaramente sgrassato; quindi si procedeva ad un rapido prosciugamento del materiale disteso. Lo stesso si faceva per goccie di coltura più o meno diluite in liquido ovomucoide. E'necessaria una rapida evaporazione dei liquidi affinchè gli elementi di *Bl.* conservino la loro forma e struttura senza che intervengano artefatti di una qualche importanza. La colorazione da noi preferita è quella di May-Gruenewald-Giemsa che ci ha sempre permesso il rilievo dei più fini particolari ed il migliore studio citologico.

d) esame prolungato per ore e per giorni di elementi isolati od in gruppo di *Bl.* a fresco in goccia pendente in camera umida, a temp. ambiente ed al buio; questo procedimento ha permesso di osservare nettamente l'evoluzione e la moltiplicazione di *Bl.* per scissione e per endosporulazione, in modo non dissimile da come è stato fatto da Reyer.

e) esame di materiale fecale di rana e di materiale colturale in liquido ovomucoide agarizzato o gelatinizzato e compresso tra due vetrini (copri- e portaoggetti). Con questo mezzo si realizza una condizione di semianaerobiosi (microanaerobiosi) che ha permesso il rilievo di forme interessanti.

nelle colture: essi si presentano tuttavia con un ritmo ed una successione che sembra essere diversa nei due casi, probabilmente per le diverse condizioni in cui il protista viene naturalmente a trovarsi. Ci piace in particolarmodo di sottilineare il fatto che noi abbiamo potuto riscontrare anche nell'ampolla rettale della rana il fenomeno della sporulazione endogena da Schilling e Santoni ritenuto un fatto possibile, anzi naturale e logico, ma non ancora osservato. La nostra fotografia fig. 3 della tavola XXIX indica precisamente un processo di endosporulazione di *Bl.* nel materiale fecale. Un altro reperto degno di particolare interesse perchè non ancora messo in evidenza è quello del singolare raggruppamento di parecchi cistoidi di *Bl.* conglutinati in ammassi, in modo che le singole forme si modellano le une sulle altre, quando le forme si vengono a trovare ed a moltiplicare per scissione nell'interno di blocchi di muco che impedisce il liberarsi e l'individualizzarsi delle singole forme. Ciò è interesante perchè ricorda un analogo processo che noi abbiamo visto riprodursi per *Bl.* quando è coltivata in terreni semisolidi molto viscosi e perchè tende a riprodurre certi aspetti di conglutinazioni di alghe unicellulari acloriche (fig. 1 e 2, tav. XXIX).

Nelle colture in liquido ovomucoide con siero di cavallo (a temperatura ambiente ed al buio) il maggior rigoglio di *Bl.* è stato osservato dal 4° al 6° giorno, sino talora al 12° giorno. In tale periodo di tempo si nota nelle colture l'assenza di vecchie forme sofferenti, la presenza di molte forme di media grandezza; mentre è scarsa la moltiplicazione per scissione diretta, sono molto frequenti, talora frequentissime cosí da trovarne più d'uno in un campo d'osservazione, i vari stadi del processo di endosporulazione.

Col passare dei giorni, il numero delle forme in sporulazione va progressivamente diminuendo, mentre aumenta rapidamente il processo di scissione diretta. Segue, dopo un vario numero di giorni, la scomparsa totale del processo di endosporulazione e l'apparire di forme cistiche di varia dimensione sino a grandissimi e di vari aspetti che fanno pensare decisamente a processi disintegrativi.

Nei trapianti successivi, anche eseguiti ogni quattro giorni, (il numero dei trapianti è relativamente limitato perchè ad un certo momento si esaurisce la vitalità della coltura) il processo di endosporulazione scompare, per rimanere solo la modalità della scissione diretta.

Questi rilievi sul ritmo della successione dei due metodi fondamentali di riproduzione di *Bl.* in coltura nei confronti di quanto avviene nell'ambiente naturale sono molto interessanti e permettono alcune argomentazioni esplicative che devono ritenersi per ora ipotetiche perchè non sempre i fatti sono cosí chiari od ancora tanto indagati e conosciuti da portare alla sicura spiegazione dei fenomeni.

L'esaurirsi del processo di sporulazione dopo breve periodo di tempo nelle colture, per lasciar prevalere il processo di divisione diretta, potrebbe trovare la spiegazione in rapporto all'influenza dello speciale ambiente che si viene creando nel tubo di saggio con la progressiva moltiplicazione dei germi associati. Questa spiegazione protrebbe giustificare anche la prevalenza del processo di divisione diretta nell'intestino della rana. Il fatto tuttavia appare molto interessante quando si pensi che esso sembra essere in contraddizione con le usuali conoscenze a proposito della successione delle fasi di moltiplicazione di molti microrganismi a cominciare da funghi e tra essi dei lieviti sporigeni. Insistiamo su questi ultimi in quanto, molto spesso, *Bl.* è stata avvicinata in qualche modo anche ai lieviti quando non inclusa direttamente nell'ordine. Nei lieviti la forma di moltiplicazione usuale nei mezzi ambienti favorevoli è quella per gemmazione e negli schizosaccaromiceti quella per scissione, cioè una forma di moltiplicazione vegetativa. All'apparire di condizioni comunque meno favorevoli alla vita dei lieviti si

ha un rallentamento del processo di moltiplicazione vegetativa mentre si inizia quello di endosporulazione che viene perciò interpretato come un adattamento alla perpetuazione del microorganismo in mezzi ostili con formazione di elementi moltiplicativi meglio adatti a tali condizioni. In *Bl.* la successione sarebbe invece inversa a quella dei lieviti, come si è prospettato. Questo fatto non deporrebbe molto a favore di una analogia tra i due gruppi di microrganismi. Senonchè una interpretazione diversa e possibile della successione e della prevalenza delle forme di moltiplicazione di *Bl.* nel sustrato naturale ed in quello colturale è suscettibile di spiegazione se si ammette che la consociazione con la flora intestinale (e preferibilmente quella batterica) sia una condizione fondamentale, favorevole al normale sviluppo e moltiplicazione di *Bl.* In tal caso nel canale intestinale degli animali l'associazione „microflora intestinale + *Bl.*" favorirebbe la normale moltiplicazione per scissione. Le condizioni di impoverimento della flora di corteggio creata artificialmente per il trasporto di *Bl.* nei terreni di coltura, alterando il rapporto di cui sopra, creerebbe condizioni ostili alla vita di *Bl.* dal che una moltiplicazione prevalente per endosporulazione. Il graduale arricchimento, dei mezzi di cultura in microrganismi della flora batterica, con l'andare del tempo, torna a creare a *Bl.* delle condizioni in qualche modo simili a quelle che si hanno nel canale intestinale dal che la graduale diminuzione delle forme di endosporulazione ed il conseguente aumento delle forme in scissione. Naturalmente queste sono delle ipotesi, che restano tali anche perchè non sappiamo quali sieno nell'intima essenza le condizioni favorevoli create dalla associazione. Sembra certo, a questo proposito, che le generazioni di schizomiceti variamente succedentisi od alternantisi ed in associazione con *Bl.* nelle colture abbiano una influenza su *Bl.* stessa. Esperimenti ripetuti ancora recentemente con materiale umano hanno permesso la seguente osservazione: i tubi di coltura che dopo una incubazione di alcuni giorni presentavano una colorazione bruno verdastra (probabilmente per lo sviluppo di alcune specie batteriche) apparivano sterili di *Bl.*; i tubi di saggio che si mostravano invece con materiale colturale relativamente chiaro, con un deposito al fondo di aspetto biancastro, apparivano molto ricche di *Bl.*

Le modalità della moltiplicazione per scissione di *Bl.* sono ormai note: citiamo ad esempio la descrizione recentemente data dal Reyer e sopratutto ci riferiamo alla bella serie di fotomicrografie successive della tavola XIII del suo lavoro (figg. 1—13). La successione tipica delle fasi si ha generalmente per un allungamento di *Bl.* che dalla forma sferica passa alla ovoidea o alla ellissoidea. A questo stadio segue precocemente un inizio di strozzamento all'incirca a metà della cisti che può aversi tanto bilateralmente che simmetricamente sia da un solo lato, dapprima, sia alquanto eccentricamente; comunque la fase successiva si ha con la formazione di un setto trasverso che, all'incirca, biparte la cisti. Alla formazione del setto segue una maggiore individualizzazione delle due metà che assumono forma sferoidea più o meno appianata in corrispondenza del setto. L'ultima fase è quella della scissione degli elementi figli secondo il setto stesso e la creazione di due cisti omologhe. Tale processo è naturalmente suscettibile di qualche modificazione nelle sue modalità essenziali come si ha in fenomeni del genere per altri microrganismi. La durata del fenomeno, pur essendo varia e rapida, oscilla in media da venti minuti a qualche ora.

Le nostre osservazioni coincidono esattamente con quelle di Reyer; abbiamo però avuto occasione anche di osservare che non sempre il fenomeno della scissione giunge alla fase finale, cioè alla moltiplicazione delle cisti iniziali; in qualche caso il processo iniziatosi in apparenza normalmente e giunto anche allo stadio di formazione del setto trasversale, regredisce riformandosi la cellule primitiva non settata.

Tutto ciò si realizza in mezzi liquidi ove la ridotta viscosità del sustrato permette la separazione delle due cellule figlie originatesi dal processo di bipartizione. In mezzi di maggiore viscosità quali sono quelli prodotti dalla agarizzazione e gelatinizzazione del liquido colturale, le cellule derivate dal fenomeno successivo di bipartizione rimangono in sito cioè più o meno aderenti e conglobate tra di loro; ne deriva che per successive bipartizioni viene a formarsi un grumo di cisti aggregate analogo ai grumi che si osservano nel contenuto intestinale della rana ove la viscosità del mezzo è elevata per la presenza di sostanze mucose. Questi aspetti ricordano anche la tendenza di molte alghe unicellulari a formare ammassi conglutinati (Protococcales, Protothecaceae) (vedi fig. 1, 2, 3 della tav. XXIX).

Questa affermazione circa la vera esistenza di un procedimento di scissione diretta in *Bl.* parrebbe in conflitto con quanto avevamo sostenuto in precedenza (1936), della mancanza cioè di una decisiva dimostrazione su mezzi di moltiplicazione di *Bl.* diversa dalla endosporulazione. Si deve ricordare, a questo proposito, che tutte le nostre esperienze di quel tempo e le osservazioni relative si effettuarono su materiale di *Bl.* di provenienza umana; per quello che è la nostra esperienza, nell'uomo il processo di moltiplicazione per scissione è meno frequente di quanto non si avveri per le *Bl.* (anche in coltura) contenute nell'intestino delle rane. Poichè dalle nostre osservazioni una vera moltiplicazione per scissione appariva dubbia o quanto meno rara ed atipica, fummo portati a mettere in dubbio l'esistenza del fenomeno. Evidentemente il materiale della rana si comporta in maniera alquanto diversa almeno come frequenza del fenomeno di scissione che si può osservare in serie e completo. Che il Reyer abbia fatto analoghe osservazioni su materiale di provenienza umana non ci dice nulla sulla frequenza del fenomeno.

Dobbiamo ancora osservare che le osservazioni accertanti in modo del tutto attendibile la moltiplicazione di *Bl.* per scissione, sono molto recenti e comunque posteriori al nostro lavoro del 1936; citiamo, oltre a quelle di Reyer, quelle di Schilling e Santoni. Le più vecchie osservazioni, a cominciare dalle classiche di Grassé, di De Beaurepaire Aragaõ e di Alexeieff non hanno permesso a questi autori di pronunciarsi esplicitamente sul fenomeno e sulla sua interpretazione.

Circa le modalità della endosporulazione, noi ci esimiamo dal descrivere in dettaglio il processo in quanto ben noto sopratutto per gli studi effettuati su *Bl.* del contenuto intestinali di animali a sangue freddo; i primi sono gli studi di De Beaurepaire Aragaõ che sono tra i più dimostrativi; d'altro canto le fotografie che riproduciamo (vedi tavole XXVII e XXVIII) ne illustrano chiaramente le fasi fondamentali e corrispondono sia a quelle viste da Schilling e Santoni come a quelle rappresentate dal Reyer, sebbene l'iconografia di quest'ultimo autore sia meno dimostrativa al riguardo. Abbiamo incluso anche le osservazioni di Reyer benchè questo Autore neghi il fenomeno ed ammetta di non aver mai osservato una endosporulazione; in realtà le figure fotomicrografiche della tavola XIII, ai numeri 14—21 e sorpatutto quelle ai numeri 22—44 rappresentano la morfologia esterna del fenomeno della sporulazione (le cui fasi profonde non sono state seguite dall'Autore con uno studio citologico degli elementi). Per chi osservi il decorso del fenomeno soltanto alla superficie delle cisti endosporulanti e sopratutto in materiale non bene adatto per la dimostrazione del processo quale quello degli animali a sangue caldo e particolarmente dell'uomo, le manifestazioni esterne della endosporulazione sono simili a quelle di una gemmazione, ordinariamente multipla (talvolta unica, se il processo analogo porta alla formazione di una sola endospora) per il protrudere delle endospore alla superficie della cisti madre. Ciò, del resto, era noto dalle osservazioni della sporogonia di Alexeieff

(1917) e dalle conferme succesive di Wenyon e O'Connor (1917), di De Beaurepaire Aragaõ (1922), di Knowles e Das Gupta (1924), di Grassé (1926), delle nostre (1936) di Schilling e Santoni (1936) ed altri ancora.

Quanto poi alla denominazione di „endosporulazione", come si usa normalmente, o di „ectosporulazione", come la definiscono Schilling e Santoni, è una questione puramente nomenclatoriale che non modifica sostanzialmente la natura del fenomeno di moltiplicazione. Ma poichè noi stessi, d'accordo con la quasi totalità degli studiosi che ci precedettero su questa strada consideriamo il processo di sporulazione come *endogeno* nella sua parte essenziale, anche se le manifestazioni morfologiche sono necessariamente esogene all'osservazione superficiale, riteniamo più opportuno seguitare a chiamarlo „endosporulazione".

A proposito ancora del fenomeno che Reyer chiama „einfache Knospung" e „multiple Knospung", ricorderemo che anche noi abbiamo visti quadri analoghi; il fatto che questi fenomeni ci sono apparsi nelle colture relativamente più vecchie di quelle dove è evidente e completo il processo di endosporulazione, ci conferma nell'idea che il quadro della gemmazione unica o duplice o multipla come è stata vista e figurata da Reyer per il meriale di *Bl.* dell'uomo e degli animali a sangue caldo, altro non è che un equivalente degradato, una forma sofferente di endosporulazione che si svolge solo parzialmente ed incompletamente.

Dalle nostre odierne osservazioni, pertanto, dobbiamo concludere che le modalità della moltiplicazione di *Bl.* della rana, sia nell'intestino dell'animale che nelle colture, sono da riportarsi essenzialmente a due:

a) quella della *endosporulazione* con i più svariati aspetti da quello tipico completo a quelli degradati e sofferenti, irregolari, atipici, ecc.

b) quella della *scissione diretta* che sembra alternarsi con la prima modalità a seconda di particolari condizioni ambientali naturali od artificali.

Ulteriori rilievi a conferma della natura algina di Blastocystis

Nel nostro studio del 1936, brevemente riassunto nella nota inglese del 1938, sostenevamo, per la prima volta, che *Blastocystis* aveva delle probabilità di essere incluso tra le Algae, piuttosto che tra i Funghi od i Protozoi. Gli studi che da quel tempo ad oggi sono venuti ad aggiungersi alla abbondante bibliografia di *Bl.* non hanno detto nulla di nuovo in proposito. Reyer (1939) negando una endosporulazione ed ammettendo solo un processo di moltiplicazione per scissione e per gemmazione, non aderisce al nostro concetto di ravvicinamento di *Bl.* alle Protothecaceae ma senza darne la regioni, accontentandosi di riferire quanto hanno scritto su questo argomento Schilling e Santoni. Egli propende per l'inclusione di *Bl.* nei *Fungi Imperfecti* (Deuteromycetes); a parte il fatto che egli non giustifica a pieno tale inclusione, essa è cosí vaga (dato che i *Fungi Imperfecti* racchiudono tra loro una infinità di forme fungine le più varie) che una asserzione isolata di questo genere è priva di significato.

Schilling e Santoni hanno criticato le nostre vedute circa la inclusione di *Bl.* nelle Algae soltanto per tre ragioni: 1) impossibilità di coltura di *Bl.* nei terreni usati da Krueger per la coltura di *Prototheca*; 2) per il fatto che nessun autore avrebbe mai osservato in *Bl.* i cromatofori presenti nelle Algae; 3) perchè i presunti fatti di coniugazione da noi vagamente supposti nell'interpretare figure e descrizioni di qualche nostro reperto, non sarebbero che fasi terminali del processo di scissione.

Queste obiezioni sono del tutto prive di valore e dimostrano al più che Schilling e

Santoni non conoscono le Algae e meno che mai le Protothecaceae ed in generale le Chlorophyceae Autosporineae, poichè in caso contrario essi stessi non avrebbero ritenute valide le obiezioni mosse, e sopratutto le prime due. Per quanto si riferisce al primo punto (impossibilità di coltura di *Bl.* nei terrenu usati da Krueger per la coltura di *Prototheca*) le difficoltà generali di coltura di *Bl.* in qualsivoglia sustrato liquido, semisolido o solido di qualsiasi composizione e sotto qualunque condizione, la impossibilità di ottenere colture pure di *Bl.*, e l'alta specializzazione di *Bl.* stesso nell'ambiente intestinale (per cui nessuno e nemmeno noi stessi, che pure la cercammo espressamente, ha potuto trovare *Bl.* nell'ambiente esterno), sono tutte ottime ragioni che possono giustificare l'insuccesso colturale dei due Autori; esempi di mancato possibile adattamento colturale di parassiti animali mentre specie analoghe ambientali sono facilmente coltivabili non mancano nella letteratura fungina, protozoaria, schizomicetica; tanto varrebbe negare ad esempio l'appartenenza al genere *Neisseria* del gonococco semplicemente perchè non si coltiva facilmente come quasi tutte le altre specie dello stesso genere; oppure tanto varrebbe negare le affinità delle Peronosporaceae con le Phytophtoreae per il fatto che le prime non si coltivano in nessun modo mentre le seconde sono facilmente coltivabili. Infine noi abbiamo sempre parlato di „affinità" di *Bl.* con le alghe Protothecaceae e con *Prototheca*, ma mai abbiamo affermato che *Bl.* debba identificarsi con questi microrganismi, limitandoci ad affermare la natura d'alga del protista.

La mancanza di cromatofori in *Bl.* corrisponde perfettamente alla mancanza di cromatofori delle Protothecaceae ed in generale di tutte le Chlorophyceae acloriche, cioè senza clorofilla, se si ammette che il cromatoforo è pigmentato. Ma la presenza del corpo interno dei cistoidi adulti di *Bl.*, che abbiamo dimostrato essere perfettamente omologo al cromatoforo aclorico delle Protothecaceae, e tutte le ragioni che ci hanno fatto paragonare il corpo interno dei cistoidi di *Bl.* con il cromatoforo aclorico delle Chlorophyceae non clorofilliane, non è stata smentita, anzi neppure esaminata da Schilling e Santoni. Aggiungeremo che le anomalie strutturali del corpo centrale di *Bl.* sono omologhe alla regressione dei cromatofori delle alghe acloriche; anzi tale regressione, come del resto ci si doveva attendere, è il risultato del passaggio dei Protococcales (Chlorococcales) Autosporineae autotrofi ai Protococcales Autosporineae eterotrofi o Protothecaceae. Del resto le formazioni plasmatiche ed endocellulari delle Protococcaceae sono ridotte rispetto e quelle delle altre alghe; ad esempio mancano del tutto zoospore (zooidi) mobili, ma il ciclo include soltanto le fasi aplanospore-autospore; in molte Protococcaceae mancano i pirenoidi, ecc.

Circa il terzo punto, cioè mancanza di fatti di coniugazione, ritorniamo ad osservare che veri fatti di coniugazione non furono mai osservati da noi; nella necessità di interpretare alcune morfologie di qualche Autore che ci ha preceduto in questo studio, avevamo ammesso l'ipotesi della loro esistenza. Proprio negando l'esistenza di fatti coniugativi in *Bl.* si da una ulteriore conferma delle affinità con le Algae autosporineae (Chlorophyceae acloriche) ove mai sono stati riscontrati fatti coniugativi, particolarmente nelle Protococcaceae, nelle Chlorellaceae, ecc.

Per tutte queste ragioni ci sembra che le poche critiche fatte da Schilling e Santoni non solo mancano di significato in relazione alla nostra ipotesi sulle affinità di *Bl.* con le Algae acloriche, ma vengono proprio ad avvalorarle.

In conclusione, manteniamo le nostre precendenti asserzioni circa le affinità tra *Blastocystis* e le Algae, ben maggiori di quelle che possono aversi tra *Bl.* e qualsiasi altro *phylum* dei viventi, in base alle già espresse ragioni che quí riassumiamo brevemente:

1) il corpo centrale dei cistoidi di *Bl.* è comparabile al cromatoforo delle Chlorophiceae acloriche.

2) la capsula mucilaginosa che avvolge spesso i cistoidi di *Bl.* è rara nei lieviti mentre la presenza di sostanze mucilago-pepsiche si avvicina a quella della parete di alghe cloroficee.

3) scarso sviluppo del condrioma di *Bl.*, più analogo al ridotto condrioma delle alghe che al ben sviluppato condrioma dei funghi.

4) variabilità nel numero delle endospore, variabilità delle dimensioni dei cistoidi endosporulanti di fronte ai cistoidi che si moltiplicano vegetativamente, proprietà queste che sono molto più vicine alle stesse caratteristiche di *Prototheca* che a quelle dei funghi (lieviti).

5) assenza in *Bl.* di mitosi nucleari nei cistoidi endosporulanti, mentre nei lieviti il fenomeno mitotico è la regola. Nelle Algae meno evolute ed in particolare in *Prototheca* l'amitosi nucleare è la norma.

6) presenza nel contenuto intestinale di diarroici da sprue della *Prototheca portoricensis* e di una sua varietà (confronta Ashford, Ciferri e Dalmau, 1930) e di altre forme di alghe acloriche (*Schizosphaeromyces*) nel cessino (vedi Alexeieff, 1928). A ciò deve aggiungersi che delle alghe parzialmente clorofilliane, cioè in via di perdere il pigmento per passaggio dalla vita autotrofa a quella eterotrofa (*Chlorella variegata*) sono state trovate nell'intestino dell'uomo e che le stesse *Prototheca* vivono in sostanze organiche putrescenti (flusso mucoso semiconsolidato degli alberi, fondi di birreria, ecc.); (vedi in proposito Ciferri e Redaelli, 1935).

7) circa le modalità di moltiplicazione, ammessa la moltiplicazione per scissione, noi rientramo perfettamente nei Protococcales in generale, mentre ci allontaniamo dalle vere Protothecaceae, confermando cosí quanto si diceva sin dal 1936 circa una *affinità e non una identità* di *Bl.* con le Protothecaceae. Una divisione cellulare che con varie modalità e con diverso aspetto può riferirsi alla schizogenesi è nota nelle Chlorophyceae e quindi anche nelle Protothecaceae; vedi a proposito Dangeard (1933), Fritsch F. (1935), Printz (1927), West e Fritsch (1927), Smith G. M. (1938) ed altre monografie meno recenti; più specificamente per il gruppo che ci interessa vedi Chodat (1913).

8) a tutte le suddette ragioni si può aggiungere quella non precedentemente da noi rilevata, della tendenza di tutta una serie di Chlorophyceae a formare delle masserelle dovute alla coesione di cellule riproducentisi per scissione, particolarmente ben nota nelle Protococcaceae (confronta Smith, 1938 ed altri studiosi); per divisione da una singola cellula se ne formano dapprima due, poi quattro, otto, ecc., che rimangono riunite formando delle masserelle in cui dapprima le singole unità sono distinte in quanto le facce secondo le quali è avvenuta la scissione rimangono più o meno pianeggianti, mentre poi tornano ad essere sferiche o più o meno modellantesi le une sulle altre; qualche cosa si molto simile avviene per *Bl.*, sia nel muco dell'ampolla rettale della rana, sia in terreni colturali a viscosità speciale.

Le soprariportate ragioni ci sembrano ancora oggi sufficentemente valide e sino a che non si portino prove od attendibili induzioni in contrario, perchè la nostra ipotesi circa l'appartenenza di *Blastocystis* alle Algae possa essere giustificata.

Sommario

Le nostre ulteriori ricerche a proposito della natura e sistematica di *Blastocystis* attraverso osservazioni sul protista commensale della rana comune, ci hanno portato ai seguenti rilievi:

1) nelle rane in cattività l'infestione di *Bl.* si generalizza a tutti gli individui con alterazioni macroscopicamente dimostrabili del contenuto intestinale; ciò lascia supporre che il protista possa trasmettersi da animale ad animale attraverso l'ambiente e che possa indurre alterazioni nel normale contenuto dell'ampolla rettale dell'anfibio. La ricerca di *Bl.* nell'ambiente in cui hanno vissuto queste rane ha dato esito negativo.

2) ulteriori tentativi per ottenere *Bl.* della rana in coltura pura non hanno portato a conclusioni positive; oltre le prove già da noi escogitate nel 1936, per *Bl.* di origine umana, abbiamo saggiato l'azione inibente di varie sostanze coloranti sulla flora schizomicetica associata al protista, l'isolamento dello stesso a mezzo di procedimenti di micromanipolazione, la filtrazione per candela di colture secondo le indicazioni di Newiadomski. L'impossibilità di ottenere colture pure di *Bl.* rende certamente meno facile lo studio di questo microorganismo nelle sue attività biologiche e di riproduzione.

3) Lo studio delle attività riproduttive di *Bl.* della rana „in vivo" ed „in vitro" ci ha permesso di confermare in pieno le recenti osservazioni morfologiche di Schilling e Santoni: il protista (come del resto avevano già visto precedenti osservatori) si moltiplica per *scissione diretta* e per *sporulazione*. I due modi di riproduzione si succedono tanto „in vivo" come „in vitro" in rapporto probabile col crearsi di condizioni speciali dovute al vario moltiplicarsi ed avvicendarsi della flora associata. Abbiamo potuto osservare che il processo di sporulazione avviene anche nell'intestino della rana. Circa la vera natura di questo fenomeno di moltiplicazione e la sua definizione nomenclatoriale, sosteniamo che si tratta di una „endosporulazione" e che la distinzione fatta da Schilling e Santoni col nome di „ectosporulazione" non ha significato. Non abbiamo potuto confermare la modalità di riproduzione per gemmazione unica o multipla illustrata da Reyer; a questo proposito siamo tuttavia della opinione che il fenomeno visto da Reyer (e presente anche in molti dei nostri preparati) e da questo Autore considerato solo esteriormente e non indagato citologicamente, altro non è che un processo di endosporulazione che si visualizza all'esterno con l'accentuazione del corpo delle endospore sulla superficie dell'elemento madre; trattantosi, nel caso di Reyer, di materiale di origine umana e murina, dove il fenomeno della endosporulazione non si svolge sicuramente nella sua più classica espressione morfologica come per *Bl.* della rana, pensiamo che gli aspetti interpretati da Reyer come di gemmazione unica o multipla, altro non sieno che processi di endosporulazione degradati ed incompleti.

4) circa la natura e la posizione sistematica di *Bl.*, noi non troviamo nelle argomentazioni svolte da Schilling e Santoni una critica sufficientemente fondata perchè la nostra ipotesi sulla natura algina di *Bl.* possa essere senz'altro abbandonata. Invece, riprendendo le nostre considerazioni fatte nel 1935, sosteniamo che:

per la natura del corpo interno di *Bl.* paragonabile al cromatoforo delle Chlorophyceae acloriche; per la natura della capsula mucilaginosa; par lo sviluppo del condrioma; per la variabilità del numero e delle dimensioni delle endospore; per la modalità amitotica di moltiplicazione dei nuclei dei cistoidi (come nelle alghe meno evolute); per l'analogia con altre alghe unicellulari acloriche trovate nell'intestino dell'uomo e di vari animali; per una modalità di riproduzione per scissione (accanto alla endosporulazione) che può far avvicinare *Bl.* alle Protococcaceae (Chlorophyceae), per una tendenza delle forme in scissione a restare riunite in masserelle quando il sustrato abbia una particolare viscosità,

è anrora possibile sortenere la ipotesi che *Bl.* (ed in questo momento anche *Bl.* della rana oltre che quella dell'uomo da noi studiata nel 1936) possa considerata opportunamente vicina alle alghe, e particolarmente alle Alghe acloriche non è priva di fonda-

mento anche se non è possibile definire oggi la precisa posizione sistematica nell'ordine pur esistendo delle affinità da una parte con le Protothecaceae e dall'altra con i Protococcales.

Summary

From our second contribution to the study of *Blastocystis* on the frog, the following conclusions are deduced:

1) on frogs mantained in captivity, the infestion of *Blastocystis* is easily generalized to all the individuals. This Protists is, apparently, diffused from one to another individual, and demonstrated by the alteration of normal content of the Amphibian rectal ampulla. However, the presence of *Blastocystis* on the life substrata of the frogs has non been demonstrated.

2) the negative results formerly obteined (1936) as to the pure culture of *Blastocystis* were confirmed, in spite of the tentative use of stains (against bacterial contaminations), micromanipulation, of filtering trough candle (according Newiadomski), and so on. The main difficulty on the study if *Blastocystis* life cycle and biological activities is related to the impure cultures up to now obtained.

3) The observations of Schilling and Santoni on the reproductive modalities of *Blastocystis* were fully confirmed, both "in vitro" and "in vivo", particularly in regard to the direct fission and the sporulation. The last phenomen, in our opinion, is clearly an "endosporulations", as the so called "ectosporulation" is without signification. On the contrary, the reproduction by budding (according Reyer) has not been observed. Apparently, this bud formation is one of the aspects of degraded or imperfect endosporulation, as observed on *Blastocystis* from man and mice in opposition to the better life cycle developed on *Blastocystis* from cold-blood animals.

4) The opposition of Schilling and Santoni against our view on *Blastocystis* as related to achloric Algae instead of Fungi (or Protozoa) is insustainable. As appearing from the actual results, *a*) the "internal body" of the Protist (homologous to the chromatophore of achloric Chlorophyceae); *b*) compsition of mucilaginous capsula; *c*) development of chondriome; *d*) variability in number and size of endospores; *e*) amytothic nuclear reproduction of cystoids (as in lower Algae); *f*) similarity with achloric Algae previously found in human intestine; *g*) reproduction by fission together the reproduction by endosporulation (as in the Protococcaceae); *h*) the tendency of fissing cells to heap up in small lumps on visions media, are favouring our hypothese.

Bibliografia

Si segnano qui di seguito solo alcuni dati bibliografici non compresi nell'elenco in margine al nostro lavoro del 1936, e quelli posteriori a questa data. Per il resto vedasi la bibliografia del notro lavoro citato [Redaelli P. e Ciferri R., Boll. Istit. Sierot. Milanese, *15*, (3), 154—170, 1936).

Chodat, R., Monographies d'Algues en culture pure, *Matériaux pour la flore cryptog. Suisse*, (1913) — Ciferri, R. and Redaelli, P., Mycopathologia, *1*, (1), 3—6, (1938) — Dangeard, P., Traité d'algologie, P. Le Chevalier Edit., Paris (1933) — Fritsch, F. E. and West, G. S., A treatise of the British freshwater Algae, *Univer. Press.*, Cambridge, (1927) — Fritsch, F. E., The structure and reproduction of the Algae, Vol. I, Cambridge, (1935) — Knowles, R. and Das Gupta, B. M., Indian J. Med. Res., *12*, (1), 31—37, 4 figs., (1924) — Ivanic, M., Arch. f. Protistenk., *87*, (2), 242—247, 14 figs. (1937) — Ivanic, M., Cellule, *46*, (2), 159—178, 1 pl., 31 figs. (1937) — Newiadomski, M. M., Zbl. f. Bakt., I° Abt., Orig. *138*, (3—4), 244, (1937) — Redaelli ,P. e Ciferri, R., Boll. Sez. Ital. Soc. Intern. Microbiol., (8—9), (1935) — Reyer, W., Zbl. f. Bakt., I° Abt., Orig., *142*, 323—329, (1938) — Reyer, W., Arch. f. Protistenk., 92, (2), 226—244, 3 tav., 2 figs., (1939) — Schilling C., und Santoni ,D. A., Zbl. f. Bakter., I° Abt., Orig., *137*, (5), 293—298, 6 figs., (1936). — Smith, G. M., Cryptogamic Botany, Vol. I, Algae and Fungi, New-York—London, (1938).

The Taxonomy of the Anascosporous Yeast-like Fungi[1])

by

Norman F. Conant.

(*From the Department of Bacteriology, Duke University School of Medicine, Duke Hospital,* [2]) *Durham, N.C.*)

(20.XI.1939.)

Introduction

Former studies of the yeast-like non ascosporogenous fungi based for the most part on morphologic details allowed them to be separated into numerous genera and species. Ota 1924 (1) proposed three groups for the so-called blastomycetes, namely; *Saccharomyces, Cryptococcus,* and *Monilia.* Again in 1924 Ota (2) extended this brief classification to include the two genera *Cryptococcus,* and *Myceloblastanon* which had three sub-genera, *Blastodendrion, Mycelorrhizodes,* and *Monilia.* Pollacci and Nannizzi 1927 (3) retained only two genera, *Cryptococcus* Kutzing 1833 and *Monilia* (Gmelin 1791 — Persoon 1797) emend. Sacc. 1880. *Monilia,* however, was divided into two subgroups: the *Eumonilia* with the type species *M. aurea* (Pers.) Gmelin 1791 and *Candida* Berk. 1923 with the type species *Monilia candida* Bon. 1851. Ciferri and Redaelli 1929 (4*a*, *b*) in a trial systematic classification proposed seven genera: *Blastodendrion* Ota 1924, *Geotrichum* Link 1809, *Pseudomonilia* Geiger 1910, *Pseudomycoderma* Will 1916, *Candida* Berk. 1923, *Mycotorula* Will 1916 and *Enantiothamnus* Pinoy 1911. For identification of these fungi they proposed methods which would include not only morphology but also biochemical and pathogenic activities. Their methods, however, allowed these closely related fungi to be separated into numerous genera.

Benham 1931 (5) was one of the first to recognize that morphology alone could not be used to identify fungi with such rudimentary structures and established definite characters for their separation. By using a combination of characters such as morphology, cultural characteristics, fermentations and agglutinations she was able to define clearly *M. albicans, M. parapsilosis, M. Krusei* and *M. candida.* In this study the genus name *Monilia* was retained in the „medical sense" and the fungi were recognized as belonging to a single genus. Further investigative work was said to be necessary, however, because strains were encountered which were difficult to place in any present scheme of classification. Langeron and Talice 1932 (6) on a strictly morphologic basis, recognized six genera: *Mycotorula* Will 1916, *Candida* Berk. 1923, *Blastodendrion* Ota 1924, *Mycotoruloides, Mycocandida* and *Geotrichoides.* In a further revision of their classification of these fungi Ciferri and Redaelli 1935 (7) proposed two subfamilies: *Mycotoruleae* containing the genera *Blastodendrion* Ota 1924, *Mycotorula* Will 1916, *Candida* Berk. 1923, and *Mycocandida* Lang. and Talice 1932; and *Trichosporeae* containing the genera *Trichosporon* Behrend. 1890, *Pseudomycoderma* Will 1916, and *Redaellia* Cif. 1930.

---

[1]) 1. Presented at the Third International Congress for Microbiology, Sept. 2—9, 1939, New-York, New-York.

[2]) Aided by a grant from the John and Mary R. Markle Foundation.

The resulting confusion in the taxonomic studies suggesting these various genera and the lack of agreement among investigators concerning the importance of various morphologic characters did not allow others to identify with certainty freshly isolated strains. Numerous new species were created, therefore, because strains varied slightly, could not be placed in previously described genera or identified with previously described species.

Standardized Techniques for Classification

Recent revisions in the methods of studying these fungi have brought about a marked reduction in the number of species. These studies have combined morphologic and biologic characters which seem to remain constant enough to clearly separate species. One of the first methods by which a large number of freshly isolated yeast-like fungi could be identified was that of MARTIN, JONES, YAO and LEE 1937 (8), in which 153 freshly isolated strains were compared with 19 previously classified strains. In outline form the following procedures were used: (1) Isolation of fungus on SABOURAUD's glucose agar; (2) appearance of growth in SABOURAUD's glucose broth incubated at 37° C. for 48 hours; (3) appearance of colonies on beef extract blood agar plate at pH 7.4 inoculated from SABOURAUD's broth and incubated at 37° C. for 10 days; (4) single colony picked from blood agar plate and transferred to SABOURAUD's glucose agar; (5) some of the growth from (4) transplanted to carrot plugs for possible formation of asci and the rest streaked on beef extract agar pH 7.4 and transferred for 2—3 generations; (6) growth from beef extract agar streaked on corn meal agar slide cultures for details of morphologic growth; (7) growth from beef extract agar inoculated into beef extract broth tubes containing 1% glucose, sucrose, lactose and maltose. These tubes were sealed with sterile vaseline and incubated at 37° C. for 10 days. By using these methods the character of the growth in SABOURAUD's broth, the appearance of the colonies on blood agar plates, the failure to produce asci on carrot plugs, and the constancy of the fermentation reactions and morphologic development on corn meal slide cultures allowed 169 of the 172 cultures studied to be classified into one of six species, namely: *M. albicans, M. parapsilosis, M. candida, M. Krusei, M. mortifera* and the new species *M. stellatoidea.* While recognizing that the generic term *Monilia* was not the correct botanical name for these fungi, but recognizing that these fungi obviously belonged to a single group, the name was retained in preference to any of the several proposed genera on which there seemed no agreement.

The study of LANGERON and GUERRA 1938 (9) combining morphologic and biologic characters of the yeast-like fungi resulted in a reduction of species. The methods of these authors were similar to those of MARTIN, JONES et al. 1937 but were extended to include the growth in ethyl alcohol, assimilation of carbohydrates and nitrogen. The procedures of their method were as follows: (1) isolation of fungus on 2% glucose, 1% peptone agar; (2) purification in RAULIN's liquid medium; (3) appearance of growth in 2% glucose, 1% peptone broth; (4) appearance of colonies on 2% glucose, 1% peptone agar; (5) growth on GORODKOVA medium, carrot and 2% glucose, 1% peptone agar for production of ascospores; (6) growth on slide cultures of 2% glucose, 1% peptone agar and potato-carrot agar for details of morphologic growth; (7) fermentations in 1% peptone with 2% sugars added, namely, glucose, fructose, mannose, galactose, maltose, saccharose, lactose, raffinose; tubes were sealed with paraffin, (8) growth on milk (no particular value); (9) liquefaction of gelatine (no particular value); (10) growth in ethyl alcohol; (11) assimilation of carbohydrates; (12) assimilation of nitrogen. By using these methods LANGE-

RON and GUERRA compared numerous unnamed and previously named strains and were able to reduce the number of species to sixteen. For these sixteen species the single genus *Candida* Berk. 1923 was proposed; all other genera were discarded as poorly characterized and considered *nomina nuda.*

These authors did not consider the methods of MARTIN, JONES, et al. 1937 practical because blood agar was used for macroscopic characters, the formation of a membrane in borth cultures was not noticed after 48 hours, raffinose was not used in fermentation tests, and mannite, inulin, and dextrine served no useful purpose, and the synonymy was often erroneous.

Blood agar was used, however, to distinguish dissociated rough colonies from the normal smooth colonies which were picked and studied for the purpose of classification. These two different types of colonies were not noted on dextrose agar. The formation of a surface growth in broth cultures was not considered important after 48 hours because several old cultures of *albicans* gave a false membrane when they were maintained for several days. Although nine sugars were used by MARTIN, JONES, et al. only dextrose, maltose, saccharose, and lactose were said to be sufficient for identification. By rearranging the table of fermentations of LANGERON and GUERRA 1938 (9) (page 514) it will be seen that these four sugars were all that were necessary to distinguish their species. Raffinose was fermented by *pseudotropicalis* and *Guilliermondi* but none of the other species utilized this sugar. Since *pseudotropicalis* fermented lactose and *Guilliermondi* did not, these two species were readily separated and raffinose served no useful purpose. As all these fungi which ferment glucose also ferment levulose this sugar was of no value in the fermentation studies of these fungi. The names given to the fungi and the list of synonymy presented by MARTIN ,JONES, et al. was based not only on cultures studied but also on a review of the literature. Cultures of *Mycocandida mortifera* and *Candida parapsilosis* were obtained from LANGERON and by keeping the single genus *Monilia* for this group these fungi were renamed *Monilia mortifera* and *Monilia parapsilosis.* LANGERON and GUERRA 1938 objected to these specific names and reduced these species to synonymy with *pseudotropicalis* and *parakrusei* respectively. Until their study, however, it was not known that these fungi were identical. In their list of synonymy MARTIN, JONES, et al. placed *Pityrosporum* of DOWLING with *albicans* because LANGERON and TALICE 1932 (6) had found this culture to be identical to that fungus. LANGERON and GUERRA 1938 renamed this species *Candida Guilliermondi* and objected to its previous position with *albicans.*

In spite of these criticisms, however, an examination of the methods proposed by MARTIN, JONES, et al. 1937 and LANGERON and GUERRA 1938 showed marked agreement with those species most frequently isolated; *M. albicans, M. parakrusei* (*parapsilosis*) [1]), *M. tropicalis* (*candida*), *M. Krusei* and *M. pseudotropicalis* (*mortifera*). The other species described by LANGERON and GUERRA, based for the most part on a study of a single strain or strains of old cultures, were not found among the 153 freshly isolated strains studied by MARTIN, JONES, et al.

Since their previous publication, MARTIN and JONES (to be published) (10) have finished a study of 461 freshly isolated yeast-like fungi based on the methods referred to above. These fungi included the 153 strains previously reported, 108 fecal strains reported by SCHNOOR 1939 (11), 169 vaginal strains to be reported by CARTER and JONES,

[1]) Since the first paper by MARTIN, JONES, et al. 1937, LANGERON and GUERRA 1938 reduced *parapsilosis* and *mortifera* to synonymy with *parakrusei* and *pseudotropicalis* respectively. *Candida* will be discussed later in this paper.

and 31 miscellaneous cultures isolated at Duke Hospital or sent in for identification. Of these 461 strains 457 (99.13%) could be identified. The frequency of these isolations was as follows: *M. albicans* 233 strains (50.5%), *M. stellatoidea* 110 strains (23.9%), *M. parakrusei* (*parapsilosis*) 47 strains (10.2%), *M. Krusei* 36 strains (7.8%), *M. tropicalis* (*candida*) 28 strains (16.7%), *M. pseudotropicalis* (*mortifera*) 3 strains (0.7%), and *M. sp.* unclassified 4 strains (0.9%). Again, the species most frequently isolated compared with those listed by LANGERON and GUERRA 1938 except for their *C. Guilliermondi* and the *M. stellatoidea* of JONES and MARTIN 1938 (12). This last species occurred only in the vagina and the number of isolates was due to a large series of vaginal cultures. Included in this study were 74 previously named strains. Of these 74 strains, 46 could be identified with the species just mentioned, 16 differed in some detail but were tentatively placed, 4 did not correspond to their original description and were apparently mislabeled, and 8 could not be made to fit into the classification.

The species described by LANGERON and GUERRA 1938 that were not encountered among the freshly isolated strains were studied by MARTIN and JONES. LANGERON and GUERRA 1938 separated *C. triadis* from *C. albicans* on the single character of a veil and ring formation on the surface of dextrose broth after 13 days. The formation of surface growth in broth was not noted after 48 hours by MARTIN and JONES. It was found that several old strains of *M. albicans* produced a scum on the surface of the broth after this period. Since this surface growth added nothing to the diagnostic character of this species and confused this character offered by *tropicalis* and *Krusei*, it was considered unimportant. A culture of *Mycotoruloides triadis* from C. B. S. was identical with *M. albicans*, and two rabbits injected intravenously died within a week. A culture of *C. triadis* obtained from LANGERON had *albicans* fermentations but differed in colony characteristics and mycelial arrangement. This culture was not pathogenic for rabbits. *C. triadis* should become synonymous with *C. albicans*.

C. Aldoi was placed with the *Krusei* group because it fermented only dextrose. The utilization of carbohydrates is identical to that of *C. albicans* and the utilization of nitrogen differs only from *C. albicans* in being negative for urea. In their text, however, LANGERON and GUERRA 1938 say that *C. albicans* is positive for urea but only after some time. Cultures of *Mycotoruloides Aldoi* and *C. Aldoi* were obtained from the C. B. S. When first streaked on blood plates only rough colonies were noted. By repeated streaking smooth *albicans* colonies were obtained. *M. Aldoi* fermented only dextrose but chlamydospores were obtained on corn meal agar. *C. Aldoi* gave *M. albicans* fermentations after smooth colonies were picked for study. As only one culture of *C. Aldoi* has ever been isolated, these findings would suggest that *C. Aldoi* should become synonymous with *C. albicans*.

C. intermedia was separated from *C. tropicalis* on the single character of utilizing lactose in the test of carbohydrate utilization. While their table would show a difference in the utilization of N from histidine, LANGERON and GUERRA 1938 say in their text that this substance was used after 4—5 days. Their fermentation tests for *intermedia* and *tropicalis* were identical. A culture of *Blastodendrion intermedium* obtained from LANGERON was found indistinguishable from *M. tropicalis*, in the tests used by MARTIN and JONES. As only one culture of *C. intermedia* has ever been isolated, the single character of lactose utilization should probably not be used to separate these two fungi. *C. intermedia* should become synonymous with *C. tropicalis*.

C. Chalmersi was separated from the *Krusei* group by LANGERON and GUERRA. Examination of their tables show, however, that *C. Chalmersi* differs from *C. parakrusei*

only by a fermentation in galactose and raffinose. In their text these sugars were said to be weakly fermented and then only after some time. Both *C. Chalmersi* and *C. parakrusei* utilize the same carbohydrates and nitrogenous substances. In the text they were described in much the same way; colonies and filamentation on glucose agar, behavior in glucose broth, RAULIN's medium, alcohol and milk. A culture of *C. Lodderi*, which was the original name given to this fungus by GUERRA, was obtained from the C. B. S. and was found to be identical with *M. parakrusei*, in all details. As only one culture of *C. Chalmersi* has over been isolated, these findings would suggest that *C. Chalmersi* should become synonymous with *C. parakrusei*.

Likewise, LANGERON and GUERRA separated *C. Brumpti* from their *Krusei* group. This fungus differed from *C. parakrusei* only by its inability to utilize saccharose among the carbohydrates and histidine among the nitrogenous substances. Fermentation tests were identical in that both fermented dextrose and levulose. The behavior of these two fungi was described in much the same way on glucose agar, dextrose broth, RAULIN's medium, alcohol and milk. A culture of *C. Brumpti* obtained from LANGERON was found to be identical with *C. parakrusei*. As only two strains of this fungus have ever been isolated, *C. Brumpti* should become synonymous with *C. parakrusei*.

LANGERON and GUERRA also separated *C. Flareri* from their *Krusei* group. This fungus differed from their *C. parakrusei* only by its utilization of raffinose in the carbohydrate tests. They were identical in their utilization of nitrogenous substances and fermentations of sugars. The behavior of these fungi was described much the same way but with a few differences on glucose agar, dextrose broth, RAULIN's medium, alcohol, and milk. A culture of *Blastodendrion Flareri* was obtained from the C. B. S. and a strain of the same name was obtained from LANGERON. MARTIN and JONES found that the C. B. S. strain developed numerous different types of colonies when streaked on blood plates. By restreaking several times smooth colonies typical of *parakrusei* were obtained. Cultures obtained by picking this smooth type gave typical sugar fermentations of acid and gas in dextrose only, and typical mycelial development on corn meal. A culture obtained from LANGERON gave smooth colonies on blood agar from the first but failed to ferment dextrose in ten days or give typical mycelial development on corn meal. As only two cultures of this fungus have ever been isolated, it would seem that this culture should also fall into synonymy with *M. parakrusei*.

Three strains of *C. Guilliermondi* were studied by MARTIN and JONES. One was obtained from the C. B. S.,another from LANGERON ,and a third from CASTELLANI. All developed similar colonies on blood agar superficially resembling those of *M. albicans*. There was no fermentation of glucose, saccharose, lactose and maltose, however, and no chlamydospores were produced on corn meal agar. LANGERON and GUERRA reported acid and gas in dextrose, saccharose, galactose, raffinose, and levulose. Their cultures were maintained at 25°C. and kept for 20 days. It would seem that this species might be retained, especially since several isolations were available in their study. LANGERON and GUERRA studied a culture labeled *Parasaccharomyces Ashfordi* from an unknown source and included this fungus in their *C. Guilliermondi*. A culture of *Monilia Ashfordi* Anderson obtained from the C. B. S. by MARTIN and JONES was found to be identical to *M. albicans*, in sugar fermentations, chlamydospore formation, and death of rabbit two weeks after intravenous injection.

Four other species of LANGERON and GUERRA, *C. pelliculosa*, *C. zeylanoides*, *C. deformans* and *C. suaveolens*, were not studied. Cultures of these species were obtained but failed to grow when transferred.

One species, *M. stellatoidea*, was not encountered by LANGERON and GUERRA but represented 110 of the 461 freshly isolated strains studied by MARTIN and JONES. Although similar to *M. albicans* morphologically, it was described as a new species because of the following differences:

1. It was noticed that the rate of growth on blood agar was markedly slower. In two or three days *albicans* appeared as slightly convexed rounded smooth colonies approximately 1 mm. in diameter. The *stellatoidea* colonies appeared as small radiating projections with no appreciable central zone. These colonies became larger to form a small central elevated zone with thick projections extending irregularly along the surface of the agar.

2. If the proper dilution of these fungi was made and blood agar plates poured instead of streaked, *albicans* appeared as small colonies in the agar with no particularly distinguishing feature. Colonies of *stellatoidea*, however, appeared surrounded by a greenish pigment which gave the colonies the appearance of alpha hemolytic streptococci.

3. In the fermentation tests *albicans* produced acid and gas in dextrose and maltose, acid in saccharose, with no fermentation of lactose; *stellatoidea* produced no acid in saccharose. These tests were made with beef extract broth pH 7.2, 1% sugar added, with sterile vaseline seal, and read after 10 days at 37° C. It is conceivable that these fermentations might differ if any other procedure should be used. Since 233 strains of *albicans* and 110 strains of *stellatoidea* gave constant results by the method used and the other investigators have found a much smaller number of strains to vary considerably with methods previously proposed, the procedure advocated was used exclusively.

4. Strains of *albicans* injected intracutaneously in rabbits produced abscesses in 48 hours. Strains of *stellatoidea* produced no abscesses in rabbits when injected intracutaneously.

5. More than fifty strains of *freshly* isolated *albicans* killed rabbits in four to five days when 1 cc of a 1% solution was injected intravenously. All rabbits showed typical *albicans* kidneys. One strain of *albicans* failed to kill a rabbit. More than forty strains of *stellatoidea* (2 cc. of a 1% solution) injected intravenously into rabbits failed to kill. It was found that old cultures of *albicans* varied in their ability to kill rabbits even when injected intravenously in doses much larger than 1 cc. of a 1% solution. For this reason only freshly isolated strains of each of these two species were used before they had been cultivated extensively on any one medium or several different media.

6. Rabbits injected intravenously with 2 cc. of a 1% suspension of *stellatoidea* developed a peculiar head twist. This was not noticed in rabbits injected with *albicans*.

7. Both *albicans* and *stellatoidea* produced high titred sera in immunized rabbits. These fungi showed cross agglutination reactions but *albicans* serum absorbed with *stellatoidea* would still agglutinate *albicans*.

8. *Stellatoidea* was never isolated from any part of the human body except the vagina.

Because of the differences noted, *albicans* and *stellatoidea* were considered sufficiently characterized to be separated. If the isolations studied were grouped (233 plus 110) as one species, we would have to consider 32% of *freshly* isolated strains of *albicans* as varieties presenting the constant differences noted above.

Those species described by LANGERON and GUERRA which have been reduced to synonymy by MARTIN and JONES represent with the one exception of *C. triadis* only one or two isolations of old cultures (Table I). Most of these developed rough irregular colonies on blood agar. Before they could be classified with the species commonly

TABLE 1

Species studied and named by MARTIN and JONES (to be published)	Species studied and named by LANGERON and GUERRA 1938
M. albicans	*C. albicans*
M. parakrusei	*C. parakrusei*
M. Krusei	*C. Krusei*
M. tropicalis	*C. tropicalis*
M. pseudotropicalis	*C. pseudotropicalis*
M. stellatoidea	*C. Guilliermondi*
M. albicans =	*C. triadis*
M. albicans =	*C. Aldoi* (one culture)
M. tropicalis =	*C. intermedia* (one culture)
M. parakrusei =	*C. Chalmersi* (one culture)
M. parakrusei =	*C. Brumpti* (two cultures)
M. parakrusei =	*C. Flareri* (one culture)
C. Guilliermondi	*C. pelliculosa* (one culture)
	C. zeylanoides (one culture)
	C. deformans (one culture)
	C. suaveolens (one culture)

encountered in fresh isolations, they had to be repeatedly streaked on blood agar until smooth colonies developed.

By picking these smooth colonies cultures were obtained which could be identified with previously described species. Most of these old strains had partially dissociated therefore, and presented characters which allowed them to be classified as new species.

Dissociation of cultures

That dissociative changes can take place in cultures of yeast-like fungi was shown by MICKLE and JONES (13). They were able to dissociate 14 out of 18 strains of freshly isolated *M. albicans*. These fourteen strains conformed to all of the diagnostic characters described by MARTIN and JONES; creamy growth on SABOURAUD's agar, no surface growth on SABOURAUD's broth, medium sized dull gray smooth colony on blood agar, acid and gas in glucose and maltose with acid in saccharose, chlamydospores on corn meal agar, and killed rabbits when 1 cc. of 1% solution was injected intravenously. By transferring these 14 strains successively through 0.25% lithium chloride they were able to produce both rough and smooth colonies on SABOURAUD's and blood agar. By picking a smooth colony, the characteristics of *albicans* mentioned above remained constant. When rough colonies were picked, however, the growth on SABOURAUD's agar resembled that of *Krusei* being dry granular and spreading, surface growth in SABOURAUD's broth resembled that of *Krusei*, chlamydospores were not seen on corn meal agar, and 5 cc. of a 2% solution failed to kill rabbits. Fermentation of sugars were the same as those of

the smooth or normal cultures. These characteristics have remained constant. These changed or dissociated *albicans* could, then, be placed in a different species if the character of the surface growth in broth, dry spreading growth on agar, and non pathogenicity were used as distinguishing characters.

It is conceivable that old strains maintained in culture bureaus might also undergo such dissociative changes which would allow them to be classified as new species by one who has not been able to follow the cultures from the beginning. These old cultures should be investigated thoroughly for the possibility of dissociation, before being accepted as good species. Cultures should be identified, therefore, as soon as possible after isolation and new species established only from a study of freshly isolated strains. Until the methods presented by MARTIN, JONES, YAO and LEE 1937 (8) or LANGERON and GUERRA 1938 (9) were published, there was no rigid standardized technique giving constant results with which investigators could immediately identify their isolations.

Taxonomic discussion

A review of the literature in regard to the generic terms applied to these fungi revealed many interesting and conflicting points of view. North American investigators, for the most part, have not entered into the controversy regarding generic terms but have retained the genus *Monilia* with the understanding that they were dealing with yeast-like fungi and not the conidial forms of *Sclerotinia*.

As has been pointed out by a number of investigators, the first mention of *Monilia* was that of HILL 1751 (14) for the forms described by MICHELI 1729 (15) under *Botrytis* and *Aspergillus*. Next, WIGGERS 1780 (16) and ROTH 1788 (17) added species of *Monilia* to HILL's genus. The name *Monilia* Gmelin 1791 (18) not only included several species of *Aspergillus* and *Penicillium* but also the species *M. aurea*. PERSOON 1797, (19) in his genus *Monilia*, accepted *M. aurea* (Gmelin-Micheli, Asp. 2) as his first species and described *M. rosea*, *M. glauca* and *M. candida*. In 1801 (20) his *Monilia* contained 12 species mostly derived from *Penicillium* and *Aspergillus*. He maintained *M. aurea* and added *M. fructigena* removing it from his previous *Torula*. Revised in 1822 (21), his *Monilia* contained almost entirely species of *Aspergillus* including the two species *M. candida* and *M. albicans*. These two species have also been considered *Aspergilli*. The species *M. aurea* and *M. fructigena* were removed from this group and placed in PERSOON's *Acrosporium*. The fungi had also been placed in other genera: LINK 1809 (22) described *Oidium aureum*, WALLROTH 1833 (23) described *Oospora aurea*, *Oospora candida* and *Oospora fructigena*. BONORDEN 1851 (24), however, under the genus *Monilia* Hill-Fries described only two species, *M. candida* from rotting wood and *M. cinerea* from rotting cherries.

In spite of these various uses for the generic term *Monilia*, VUILLEMIN 1911 (25) established this genus for the fruit rotting conidial forms of the genus *Sclerotinia*. He rejected PERSOON's genus because it clearly became a synonym of *Aspergillus*. He accepted the earlier *Monilia* Gmelin 1791 and made *M. aurea* Gmelin 1791 the prototype and the better known *M. fructigena* Pers. 1801 the type species on the basis that PERSOON 1822 had considered these fungi cogeneric and different from his *Monilia* by placing them in *Acrosporium*. To this genus VUILLEMIN added *M. cinerea* Bon. 1851. These three fungi comprised his „GMELIN group". The yeastlike fungi, however, were added to this genus under VUILLEMIN's „BONORDEN group" with the type species *M. Bonordenii* Vuill., *M. candida* of PLANT, to which was added *M. albicans* (Robin) Zopf 1890, *M. variabilis* Lindner 1898, and *M. pullulans* (Lindner) Vuill.

Berkhout 1923 (26) clearly distinguished between these two groups of Vuillemin by showing the „Gmelin group" to contain the filamentous conidial forms of *Sclerotinia* and the „Bonorden group" to contain the yeast-like fungi some of which were human pathogens. While *Monilia* was retained for the „Gmelin group", Berkhout raised the „Bonorden group" to generic rank and created the genus *Candida* with the type species *C. vulgaris* Berkhout (*M. candida* of Hansen). This genus included *C. variabilis* (Lindner) Berk., *C. albicans* (Robin) Berk., *C. tropicalis* (Cast.) Berk., *C. Krusei* (Cast.) Berk., *C. macedoniensis* (Cast.) Berk., and *C. metalondinensis* (Cast.) Berk.

Although Vuillemin 1911 and Berkhout 1923 did much to straighten out the earlier taxonomic tangle among these forms, there still remained considerable confusion. The genus *Monilia* of either Gmelin 1791 or Persoon 1797 should not have been retained by Vuillemin 1911. Both were known to contain species of *Aspergillus* and *Penicillium* and have earlier homonyms (Hill 1751, Wiggers 1780, Roth 1788). However, usage since Vuillemin 1911 and Berkhout 1923 has established *Monilia* in its present sense, and to change now would add only to the existing confusion. The name *Monilia* Gmelin 1791 might, therefore, be reserved and fixed as a *nomen conservandum* for the fruit rotting fungi to avoid a strict application of the International Rules in regard to rejection on the basis of having been derived from different elements, having earlier homonyms whether legitimate or illegitimate, and having become a source of confusion.

Dodge 1935 (27), however, would retain *Monilia* Bon. 1851 non Persoon as a *nomen conservandum* with *M. candida* Bon. as the type species and apply this genus to the yeast-like fungi. While Vuillemin 1911 and others have stated that *M. candida* Bon. 1851 did not correspond to *M. candida* Pers. 1797, which was an *Aspergillus*, there is no reason to believe that Bonorden did not consider his fungus the same as Persoon's. His genus *Monilia* was based on that of Hill-Fries in his text. Although he did not give an earlier reference for *M. candida* from rotting wood, it would seem to follow that of Persoon 1801 who described the habitat of his *M. candida* as follows: „variis in corporibus putrescentibus occurrit".

The conception that *M. candida* Bon. 1851 was a yeast-like fungus can be traced to the works of Hansen 1884, Plaut 1885, List 1885, Bautigaum 1886, (cited in Plaut 1887). Plaut 1887 (28) isolated what he considered *M. candida* Bon. from a piece of wood in a herbarium packet dated 1875. Because this fungus produced thrush like patches when inoculated into the crops of pigeons and hens, he considered it identical to the thrush fungus of Robin 1853. The proof offered may be sufficient to consider the fungus with which Plaut was working to be *M. albicans*, but as to whether he had isolated Bonorden's original *M. candida* was very doubtful. Hansen 1888 (29) referred to an earlier date, 1883, at which time he isolated a yeast-like fungus from fresh cow manure and juicy fruits which resemble Bonorden's fungus. This fungus had the peculiar property of not freeing invertase from its cells in the presence of saccharose. In 1888 Hansen called this fungus *M. candida* Bon. because of its similarity with Bonorden's figure Hansen clearly stated, however, that it was impossible to identify with assurance recently isolated forms with those described by the earlier authors. This caution was overlooked by subsequent investigators.

In contrast to these conceptions of Bonorden's fungus, Sumstine 1913 (30) in a study of the North American Hyphomycetes placed *M. candida* Bon. with the fruit rotting *Monilias* which he considered to belong to the genus *Oospora* Wall. 1833. The material he examined occurred on decayed wood and was said to agree well with the original description of Bonorden. Because *Oospora candida* Wall. 1833 was preoccupied,

he renamed the fungus *O. Arthuri* and placed it with *O. fructigena* and *O. cinerea.*

Vuillemin 1911, however, accepted Plaut's *M. candida* Bon. as a yeastlike fungus but considered it distinct from *M. albicans* (Robin) Zopf 1890, (31) as he believed several different kinds of fungi could cause thrush and for this reason Plaut's fungus was not necessarily identical with *M. albicans.* He changed the name to *M. Bonordenii* to avoid confusion with the earlier *M. candida* Pers. which was an *Aspergillus.*

When Berkhout 1923 created the genus *Candida* by raising Vuillemin's „Bonorden group" to generic rank, she designated *M. candida* Bon. 1851 as the type species. As she changed the name to *C. vulgaris* in an obvious attempt to avoid a binominal with a specific epithet exactly repeating the generic name, she undoubtedly considered Plaut's *M. candida* Bon. a synonym of *M. albicans* (Robin) Zopf 1890 in constrast to Vuillemin 1911. Otherwise, she would have chosen *M. Bonordenii* Vuill. 1911 for her type species as she was aware of this change by Vuillemin. She based her type, instead, on Hansen's *M. candida* Bon. after a study of three cultures; two from Kral's laboratory and one from Klöcker which she gave to the C. B. S. under the name of *M. candida* Hansen. That she thought she was dealing with Hansen's fungus becomes clear when she states that she found no reduced sugars in the saccharose fermented by her strains showing that invertase had not been released from the fungus cells. This peculiarity was described by Hansen 1888 for his *M. candida* Bon. isolated from fresh cow manure and sweet juicy fruits.

Since Berkhout's study, her cultures maintained at the C. B. S. have been studied by several investigators. Benham 1931 studied *M. candida* # 4719.1 of Thom and Church who received it from Berkhout. Langeron and Talice 1932 studied *Candida vulgaris* (Bon.) Berkhout 1923 and called it *Geotrichoides vulgaris.* Martin, Jones, Yao and Lee 1937 studied a *M. candida* from Benham and found it identical to *Monilia* type III Stovall, *Monilia* type III Reed and Johnstone, *Blastodendrion intermedium* Cif. 1929 and *Candida tropicalis* (Cast.) Berk. 1923. They retained the name *Monilia candida* Bon. 1851 for these fungi. Langeron and Guerra 1938 studied *Candida vulgaris* (Bon.) Berkhout 1923 and included it among the named cultures in their discussion of *Candida tropicalis.* They failed, however, to include it in the synonymy of this species. In their more recent paper Martin and Jones (10) found the following strains to be identical: *M. candida* Bon. # 1956 of Benham or # 2113 of A. T. C. C., *C. tropicalis* strains 255 and 677 from Langeron, *C. tropicalis* from C. B. S., *M. tropicalis* from Castellani, and *C. vulgaris* from the C. B. S.

From the above discussion of the literature and of strains studied and found to be identical, the synonymy of *M. candida* Bon. 1851 follows two courses; first, *M. candida* Bon. of Plaut 1887 equals *M. Bonordenii* of Vuillemin 1911 equals *Candida albicans* of Berkhout 1923 and of Langeron and Guerra 1938 equals *Mycotorula albicans* of Ciferri, Redaelli and Cavallero 1938 (32); second, *Monilia candida* Bon. of Hansen 1888 equals *Monilia tropicalis* of Castellani 1913 equals *Candida vulgaris* of Berkhout 1923 equals *Candida tropicalis* of Berkhout 1923. North American mycologists by retaining the genus name *Monilia* for the yeast-likefungi might list the synonymy of their *Monilia candida* Bon. as follows:

Monilia candida Bon. 1851
M. candida of Hansen 1888 (non Plaut)
M. tropicalis Cast. 1913.
C. vulgaris Berk. 1923
C. tropicalis Berk. 1923

B. intermedium Cif. 1929
G. vulgaris Lang. and Talice 1932
C. tropicalis Lang. and Talice 1932
C. intermedia Lang. and Guerra 1938

To this list might be added the various other synonyms to be found for *C. tropicalis* in Langeron and Guerra 1938 (9).

The belief that the yeast-like *M. candida* Bon. of Hansen renamed *C. vulgaris* by Berkhout was identical to the original *M. candida* Bon. 1851 caused this fungus to become the type species of *Candida* as it clearly antidated *M. albicans* (Robin 1853) Zopf 1890 It is extremely unlikely, however, that any of the yeast-like fungi isolated since Bonorden's original description were identical with his *M. candida*. It is also extremely unlikely that *M. candida* Bon. 1851 differed from *M. candida* Pers. 1797—1822 as Bonorden based his genus *Monilia* on that of Hill-Fries. *M. candida* Bon. 1851, therefore, should be disposed of as either an *Aspergillus* or a nomen *dubium*.

In view of this, *M. albicans* (Robin) Zopf 1890 necessarily becomes the earliest described species and should be the type of the genus. The synonymy of *Monilia candida*, to be correct, should be changed to allow *Monilia tropicalis* to become the accepted species:

Monilia tropicalis Cast 1913
Monilia candida of Hansen 1888
Candida vulgaris Berk. 1923
Candida tropicalis Berk. 1923
Blastodendrion intermedium Cif. 1929
Geotrichoides vulgaris Lang. and Talice 1932
Candida intermedia Lang. and Guerra 1938

In contrast to the several genera proposed for these fungi by investigators in the past, there is now a definite move towards a unification of generic terms. With the realization that the classification of the yeast-like fungi would become greatly simplified by the adoption of a single genus, investigators have been faced with the problem of selecting a generic name which would be acceptable. Langeron and Guerra 1938 proposed the genus *Candida* Berkhout 1923 because this author was the first to separate the *Monilia* of Vuillemin 1911 and raised his „Bonorden group" to generic rank under *Candida*. They considered, therefore, that *Candida* Berk. 1923 had true priority and that the other names given to this group were *nomina nuda* without precise diagnosis or systematic value. A review of the literature, however, revealed that Anderson 1917 (33, page 373) also separated the yeast-like group from Vuillemin's genus *Monilia* for the same reasons that Berkhout stated in 1923. While Berkhout created a new genus, Anderson in accordance with the rules searched for an earlier homonym, and adopted *Parasaccharomyces* Beurmann and Gougerot 1909 (34). Langeron and Guerra 1938 did not adopt this genus because its type species, *P. Sambergeri*, was poorly characterized and may not be found again.

Diddens and Lodder 1939 (35) in an appeal for unification of generic terms among these fungi adopted the genera *Candida* Berk. 1923 and *Trichosporon* Behrend 1890. The former genus was elected, because; its original description could be enlarged to include both pseudo and true mycelium and arrangement of blastospores, it has gradually been adopted for the former „*Monilia*", and it was chosen by Langeron and Guerra 1938. *Trichosporon* would be used to include forms containing both blastospores and arthrospores. The greatest objection to the adoption of *Candida* for the reasons stated

above would be that earlier genera, also poorly characterized, might have been enlarged and emended to include a broader sense and thus comply with the International Rules.

Ciferri and Redaelli 1939 (36) proposed *Mycotorula* Will 1916 for the single genus to represent these fungi, because; it had priority over *Candida*, its original description was better, its type species was original while that of Berkhout was confusing, it had not lost its original significance quite as frequently as had *Candida*, and the subfamily *Mycotoruloides* did not conflict with the generic name *Mycotorula*. The genus *Mycotorula* Will 1916 clearly has precedence over *Candida* but earlier genera were available for purposes of priority. Since a change for this group is to be made, one might make the change complete by also adopting a subfamily name that would not conflict with the type of the generic name. Verona 1939 (37) would perhaps compromise in the selection of a generic term for these fungi as he proposed both *Mycotorula* Will 1916 and *Candida* Berk. 1923.

Before accepting definitely any of the genera already proposed, *Syringospora* Quinquaud 1868 (38) should be given more careful consideration. This genus with its type species *S. Robinii* was established after a study of fifty cases of thrush and was the first validly published genus complying with the International Rules of Botanical Nomenclature. Langeron and Guerra 1938 (9) objected to this genus because the figures indicated that the type species was *tropicalis* and not *albicans*. However, they included *S. Robinii* in their synonymy of *C. albicans* and accepted Berkhout's genus *Candida* which has a proven *tropicalis* (*C. vulgaris* equals *M. tropicalis*) for its type species. Ciferri and Redaelli 1939 (36) and Diddens and Lodder 1939 (35) did not accept *Syringospora* because Quinquaud described and figured a form having one or two internal spores. The former reduced *S. Robinii* to a *nomen dubium* because of the possible presence of ascospores but included this species in their synonymy of *Mycotorula albicans* (32). Since Quinquaud specifically stated that his fungus had a non sexual reproduction, the mention of internal spores may be considered an error in observation. Vuillemin 1898 (41) (42) also described ascospores in the thrush fungus and named his strain *Endomyces albicans*. It has been recognized generally, however, that this fungus did not produce these spores. Berkhout 1923 (26) and Benham 1931 (5) found *Monilla albicans* and *Endomyces albicans* to be identical and were not able to demonstrate internal spores. Recently, Ciferri, Redaelli and Cavallero 1939 (43) studied one North American strain of *Monilia albicans* and found it identical to *Endomyces albicans*. Here again no ascospores were found but unfortunately the strains were renamed *Mycotorula albicans* var. *Vuillemini* because of the abundant development of chlamydospores. As chlamydospores have been a constant finding in freshly isolated cultures of *albicans* this new variety must be reduced to synonymy.

None of the reasons offered by these investigators have affected the legal position of the genus *Syringospora* Quinquaud 1868. Before *Mycotorula* Will 1916 (44), *Candida* Berkhout 1923 (26) or any other more recently published genus can be legally established, it must be submitted to a committee for the International Rules of Botanical Nomenclature and accepted as a *nomina conservandum*.

Conclusion

The species of yeast-like anascosporogenous fungi most frequently isolated from man were found to be the following: *albicans, tropicalis, pseudotropicalis, Krusei, parakrusei, stellatoidea* and *Guilliermondi*. A restudy of old cultures maintained in culture

bureaus for long periods of time has allowed investigators to add other species to this list. These old cultures, representing single isolations, were thought to be partially dissociated because both rough and smooth colonies developed on blood agar plates at 37°C. when streaked from SABOURAUD's glucose broth. When the smooth colony was picked for study, the culture could be identified as one of the most frequently isolated species.

The rough colonies, however, showed certain differences which allowed them to be classified as distinct species. To avoid characterizing new species on the basis of dissociative changes, freshly isolated cultures should be identified immediately by some rigidly standardized technique giving constant results.

A single genus, to be used internationally, has been proposed for these fungi which were obviously too closely related to be separated generically. Since *Syringospora* Quinquaud 1868 was the first validly published genus, it can be replaced by a more recently published genus only by establishing the latter as a *nomen conservandum* with appropriate emendation and the selection of the proper type species.

Bibliography

1. Ota, M., Ann. de Parasitol., *2*, 34—61, 1924 — 2. Ota, M., Dermatologische Wochen. *78*, 216—237, 260—265, 1924. — 3. Pollacci, G., and Nannizzi, A., Atti d. R. Accad. d. fisiocrit in Siena, *2*, 35—43, 1927 — 4*a*. Ciferri, R. and Redaelli, P., Annales Mycologici, *27*, 243—295, 1929 — 4*b*. Redaelli, P. and Ciferri, R., Zentralbl. f. Bakt. *78*, 40—55, 1929 — 5. Benham, R. W., Journ. Inf. Dis., *49*, 183—215, 1931. — 6. Langeron, M. and Talice, R. V., Ann. de Parasitol., *10*, 1—80, 1932 — 7. Ciferri, R. and Redaelli, P., Arch. f. Mikrobiologie, *6*, 9—72, 1935 — 8. Martin, D. S., Jones, C. P., Yao, K. F. and Lee, L. E., Journ. of Bact., *34*, 99—129, 1937 — 9. Langeron, -M. and Guerra, P., Ann. de. Parasitol., *16*, 36—84, 162—179, 429—476, 481—525, 1938 — 10. Martin, D. S. and Jones, C. P., (To be published) — 11. Schnoor, T. G., Am. Journ. Trop. Med., *19*, 163—169, 1939 — 12. Jones, C. P. and Martin, D. S., Am. Journ. Obst. and Gyn., *35*, 98—106, 1938 — 13. Mickle, W. A. and Jones, C. P., (To by published) — 14. Hill, J., A history of plants, vol. 2, page 69, 1751 — 15. Micheli, P. A., Nova Plantarum Genera, page 212, Florentine, 1729 — 16. Wiggers, F. H., Primitiae Florae Holsaticae, page 111, 1780 — 17. Roth, A. W., Tentamen Florae Germanicae, vol. 1, page 558—559, 1788 — 18. Gmelin, J. F., Systema Naturae, Linne, vol. 2, page 1487, 1791 — 19. Persoon, C. H., Tentamen Dispositionis Methodicae Fungorum, page 40, 1797 — 20. Persoon, C. H., Synopsis Methodica Fungorum, page 691, 1801 — 21. Persoon, C. H., Mycologia Europaea seu completa omnium fungorum in variis regionibus detectorum enumeratio, page 23, 29—31, 1822 — 22. Link, H. F., Observationes in Ordines plantarum naturales. Dissertation. Der Gesellsch. naturforschender Freunde zu Berlin, vol. 3, page 18, 1809 — 23. Wallroth, F. G., Flora Cryptogamica Germaniae, *2*, 182—184, 1833 — 24. Bonorden, H. F., Handbuch der allgemeinen Mykologie, page 76, 1851 — 25. Vuillemin, P., Bull. Soc. Myc. de France, 27, 137—152, 1911 — 26. Berkhout, C. M., De Schimmelgeslachten *Monilia*, *Oidium*, *Oospora* en *Torula*. Scheveningen, 72 pages, 1923 — 27. Dodge, C. W., Medical Mycology, page 196, C. V. Mosby Co., St. Louis, 1935 — 28. Plaut, H. C., Neuer Beitrag zur Systematik des Soorpilzes, H. Voigt, Leipzig, 32 pages, 1887 — 29. Hansen, E. C., Ann. de Micro., *1*, 49—70, 1888 — 30. Sumstine, D. R., Mycologia, *5*, 45—61, 1913 — 31. Zopf, W., Die Pilze in morphologischer, physiologischer, biologischer und systematischer Beziehung, Breslau, page 478, 1890 — 32. Ciferri, R., Redaelli, P., and Cavallero, C., Mycopathologia, *1*, 115—161, 1938 — 33. Anderson, H. W., Journ. Infect. Dis., *21*, 341—385, 1917 — 34. Beurmann, L. and Gougerot, H., Bull. et Mém. Soc. Méd. des Hôp., Paris, *28*, 222—246, 250—263, 1909 — 35. Diddens, H. A., and Lodder, J., Mycopathologia, *2*, 1—6, 1939 — 36. Ciferri, R., and Redaelli, P., Mycopathologia, *2*, 73—74, 1939 — 37. Verona, O., Mycopathologia, *2*, 122—123, 1939 — 38. Quinquaud, Arch. Phys. Norm. Path., *1*, 290—305, 1868 — 39. Robin, C., Historie naturelle de végétaux parasites qui croissent sur l'homme et sur les animaux vivants,

page 488, J. B. Baillière, Paris, 1853 — 40. Queyrat, L. and Laroche, G., Bull. Mem. de la Soc. Med. des Hop., Paris, *28*, 111—136, 1909 — 41. Vuillemin, P., C. R. Acad. Sci., *127*, 630—633, 1898 — 42. Vuillemin, P., Revue Mycologique, *21*, 43—55, 1899 — 43. Redaelli, P., Ciferri, R., and Cavallero, C., Mycopathologia, *2*, 116—121, 1939 — 44. Will, H., Centralbl. Bakt. II, *46*, 226—281, 1916.

Critical survey of the mycological literature of the year 1938[1])

by

Tibor Benedek, M.D.

(*From the Laboratory of Mycological Research, Department of Dermatology, Service: Dr. A. W. Stillians, Northwestern University Medical School, Chicago, Ill.*)

(24.XI.1939.)

CONTENTS

A. Introduction p. 267
B. Hyphomycoses p. 269
(*a*) Technic p. 269
(*b*) Statistics p. 271
(*c*) Culture p. 273
(*d*) Trichophyton p. 274
(1) Clinic p. 274
(2) Allergy p. 276
(*e*) Microsporum p. 277
(*f*) Favus p. 278
C. „Epidermophytosis" of the hands and feet p. 279
D. General biology and therapy p. 284
E. Blastomycoses p. 286
(*a*) Mycology of yeasts and yeastlike organisms p. 286
(*b*) Yeasts and yeastlike organisms as saprophytes on the inner and outer surface of the body p. 288
(*c*) Deep seated or real blastomycoses p. 289
(*d*) Bronchomoniliasis p. 290
F. Chromoblastomycosis or Chromomycosis p. 291
G. Coccidioidomycosis p. 292
H. Paracoccidioidal granuloma p. 295
I. Sporotrichosis p. 295
J. Actinomycosis p. 296
K. Experimental biology and immunology p. 301
L. Varia p. 305
(*a*) Trichomycosis p. 305
(*b*) Pityriasis versicolor p. 306
(*c*) Seborrheic dermatitis p. 307
(*d*) Allergy from air-born fungal elements p. 309
(*e*) Mycosis in occupational dermatoses p. 309
(*f*) Otomycosis p. 309
(*g*) Mycoses in the tropics p. 311
M. Fungus infections in animals p. 312
N. References p. 313

A. Introduction

A critical survey of a special literature has various aims. It first attempts to present systematically the material facts brought forth by the authors. In this way it is possible to review quickly work in a special field or contributions to special problems. Coordination

[1]) By request of the Editors.

of the material makes it easier to see the problems, solved and unsolved and to weigh objectively different contributions on the same topic.

A further goal is to scan the material in the most objective manner, made possible by the reviewer's distance from the facts and theories.

In any field of knowledge progress is only possible by means of objective criticism. It is the reviewer's duty to point out obvious fallacies which should be avoided by subsequent writers and to weed out illogical conceptions and superficial presentations.

As a whole the mycological literature of the year 1938 is surprisingly large and has many highlights in every field of this speciality. The shadows are equally numerous.

After David Gruby the development of medical mycology, hardly started, was stopped by the ridicule of contemporary authorities for half a century. Sabouraud's basic and enduring work began a new era and medical mycology has become a thriving, mighty tree. Due, however, to the increasing knowledge and much more to half-knowledge another tendency has set in which if it can not be stopped threatens medical mycology a second time with ridicule.

Since the beginning of this century the medical man has become fungus-disease-conscious. The diagnostic methods, macroscopical as well as microscopical, have been simplified and made easy for every one. The ease with which fungal elements can be found in detritus masses, in scrapings of the skin, the nails, etc. is a great temptation.

The tendency set in to stamp a skin condition a „mycotic" disease, because scrapings revealed a few mycelial threads or other fungal elements, or the cultural method yielded yeast, yeastlike bodies or more or less common molds.

Only two examples to clarify this point. In a society a patient was presented with *keratoderma plantare* and *palmare*, a case not permitting any doubt about the correctness of this clinical diagnosis. And this case was labeled at the presentation as a „hyperkeratotic mycosis" only because the hanging drop culture demonstrated a few yeast colonies, the presence of cocci and common molds in the same drop being even overlooked by the examiner.

Another case. Recently I saw a case presented in the same society as *„generalized moniliasis", with special „ids"* on the palms and soles. Evidence: the culture showed yeasts in pure culture from the superficial scrapings of diseased areas. The correct diagnosis of this case was: generalized seborrheic dermatitis of the classical type all over the body, and pompholyx of the palms and the soles.

These two examples clearly reveal the detrimental tendency threatening medical mycology with the greatest and deserved discredit.

We need correctives in this respect. One is the thorough clinical knowledge of the skin conditions and the second a more thorough histopathological analysis of the primary lesions of a condition suspect of being a mycosis. When we find that the primary lesion, for instance, demonstrates changes first in the corium, no changes whatsoever in the lower epidermis, and the microscopic or cultural examination reveals yeast, yeastlike bodies or molds, we can be sure we deal with nosoparasites. The dermatologist is and must be a clinician above all.

On the other hand, however, what is bitterly needed is the primary knowledge of the mycotic flora of the normal healthy and the diseased skin. Teaching medical mycology we assume the primordial responsibility in this respect. We have come to a crucial point in the development of medical mycology where we have to teach, to demonstrate by means of mycological methods, what is *not* a mycotic disease, before we can introduce our students into the real field of the mycotic diseases. It sounds paradoxical,

but experience has shown me the correctness of these views and the great helpfulness of this paradoxical approach.

I have made this approach the backbone of my postgraduate teaching in mycology and recommend it. It has great educational value to have the student scan every colony in the culture tube macroscopically and microscopically to determine whether it is a colony of bacteria, yeasts or molds. This method sharpens the eyes and the conscience of the students.

More clinical scrutiny, more thorough histopathological analysis of the primary lesions in doubtful cases, thorough knowledge of nosoparasites and saprophytes of the normal and diseased skin, and medical mycology will be again placed on a sound basis.

B. Hyphomycoses

(*a*) *Technic*

L. Grigoraki made investigations on a new nutrient medium for conservation of fungi. It is well known that all the nutrient media, Sabouraud's „milieu de conservation" included, are not appropriate for permanent cultures in collection, due to the pleomorphic changes fungi undergo in the long run on arteficial media. The author now recommends the following medium: 1.8 gm agar-agar, pepton 1%, maltose 2%, milk and water each 50.0 gm. On this medium *Tr. faviforme*, *A. violaceum*, *M. lanosum*, *Tr. crateriforme*, were cultured. They showed a quick growth with all their characteristic macroscopic and microscopic features. The cultures could be used as permanent strains giving in subcultures after months the characteristic features of the mother culture. It is, however, necessary to stratify the new growth after a few days in the test tube culture with 4 to 5 cc of sterile milk, to close the tubes with rubber caps and to keep them at low temperature. Under these circumstances cultures were kept almost a year without signs of pleomorphism. In order to avoid pleomorphism it is necessary to have a medium rich in lipoids, to keep the growth at a slow aerobic life and at low temperature.

A. Bergamasco recommends a new method for the quick staining of dermatomyces in scales and in hair. It consists in maceration in KOH, staining with congo red, decolorization in an acid solution and conservation in a clearing fluid. If the preparation is to be demonstrated quickly, it is preferable to use lactophenol; if one prepares permanent specimens, it is still better to use Faure's liquid.

John W. Williams (1938*b*) examined the relation of subsurface mycelium and dyes concerning their significance in mycological studies. When dyes are incorporated in media, the growth takes the dye as it develops, and factors underlying the selectivity can be studied. When dyes are used, elements of growth can be visualized more easily both microscopically and macroscopically. By subsurface growth many elements develop in a manner typical for the organism. The growth varies so that it can be used for differentiation. There is an optimum concentration of dye for use in the medium, one which is not too toxic and which will color the growths selectively. Oxydation-reduction dyes such as methylene blue may prove valuable in indicating cellular viability.

A. M. Memmesheimer (1938*b*) reported on a new culture medium for fungi. He recommends an extract of *guinea-pig skin* instead of the variable pepton. He describes the different media corresponding Sabouraud's proof medium, conservation medium and liquid medium for microcultures. A good and rapid growth occured in many instances.

D. A. Berberian (1938*b*) reported on mycologic technic for the study of anascosporous yeastlike fungi. He described a method for the special study of anascosporous filamenting yeastlike fungi. The method consists of (1) purification of mixed cultures by the use of Raulin's liquid; (2) determination of production of sexual spores or ascospores by growing the fungi on carrot medium, on Gorodkowa's medium, on potato-carrot medium and on 2% dextrose agar medium; (3) the use of a differential spore staining technic; (4) morphologic studies of giant colonies as to their microscopic structure by means of a „slide culture" technic and a growth of the organism on potato water medium; (5) studies

of appropriate biochemical reactions, such as liquefaction of gelatine, fermentation of carbohydrates, assimilation of carbohydrates and of nitrogenous substances and production of carotinoid pigment. The serologic methods hitherto used in the study of yeastlike fungi are briefly discussed.

C. C. Croft and L. A. Black (1938*a*) contributed to the knowledge of biochemical and morphologic methods for the isolation and identification of yeastlike fungi. Malt agar gave consistently high counts, and well-defined colonies of yeastlike fungi in comparison with honey agar medium or Sabouraud's maltose or dextrose agar. Enrichment studies in honey broth, pH 4.1 to 5.8, incubated at varying times and temperatures indicated that pH 5.4 to 5.8 for 24 hrs. at room temperature was most favorable to increase the number of the yeast cells. However, broth at pH 5.0 to 5.4 was less advantageous for bacterial multiplication. Standard methods, beef extract broth, as a base for fermentation media seemed to give as satisfactory results as any of five special basal media that have been used for this purpose. Results obtained in inoculating a limited series of *fermentation tubes with cultures from malt or nutrient agars did not indicate superiority of the inoculsums taken from sugar free agar*, thus eliminating the necessity for subculturing on the latter medium for several generations. Preliminary separation of yeast strains was made by selection of those having different colony appearance after 48 hrs. of inoculation on acidified malt agar. Subsurface colonies were generally smaller than those on the surface, and produced mycelium in 48 hrs., and this was not found to be a consistent differential characteristic. Inoculation of cultures into corn meal agar by deep streaks, and observations of resulting growth in situ during two weeks' incubation at room temperature, allowed placement of organisms into tentative groups. Giant colonies were not considered for use because of time required and because of variability reported. Although observation of cellular morphology from dextrose broth was valuable in some instances, the main value of this medium in other studies was the differentiation possible when pellicle formation occurred. Type of growth in gelatine did not give much aid in the classification of yeastlike fungi, whereas the coagulation of milk seemed valuable as a differential characteristic, but not on the basis of a single test. Fermentation reactions in four carbohydrates, namely dextrose, saccharose, maltose, and lactose, proved valuable in separation of species but absolute reliance was not placed on these reactions because of variations. Morphologic observations of colonies on malt agar, growth in corn meal agar, detection of ascospores in growth on carrot slants, and cultural features, such as growth on malt agar slant, and fermentation reactions in at least four carbohydrates made possible the separation of yeastlike fungi into genera, and species.

J. W. Williams (1938*c*) investigated the difference in growth of pathogenic fungi with variation of medium and oxygen tension in more than 30 species. The atmospheric pressure and the content of oxygen determined the amount and the kind of growth as well as the tendency of the fungi to grow on or below the surface of the nutrient medium. The tendency of organisms to invade the depth of a medium depends upon their seeking for the best atmospheric conditions for their growth which being partly anaerobic they find the best condition under the surface. On raising the atmospheric pressure of oxygen they invade the nutrient medium more deeply, while there is no change on raising the nitrogen pressure.

The same author (1938*a*) made interesting observations on the production of surface growth of pathogenic fungi on culture mediums. Phosphate, lactate and a combination of the two increased the surface growth of certain pathogenic fungi. Which combination or combinations will best act depends on the organism. The base medium consists of.25 % cystein and 4 % dextrose. Phosphate, lactate and the two together produce striking gross morphological changes in the colonies of certain pathogenic fungi. It is suggested that substances which cause organisms to change from a subsurface growth to a surface growth may be of value in bringing them to the surface in cutaneous infections so that they can be cultured and more easily destroyed by antiseptics.

Erich Hoffmann gave a simple quick-staining method for dermatomyces (*Microsporon minutissimum*) in scales, using azure-eosin-dye 0.075 gm dissolved in 40.0 or 70.0 gm glycerol (modified Giemsa stain). This dye mixture stains dermatomyces quickly and permanently deep blue differentiating them from the more or less reddish background of the slide. The concentration of the azure-eosin-mixture is 2 : 2 to 3 allowing a quicker staining of dermatomyces than a lower concentration 2 : 5. For scales a lower

contents of dye is preferable because the contrast between fungus element and reddish scales are more pronounced. Good results are reported in *Microsporon furfur*, *Epidermophyton* and *Trichophyton* species, *Achorion*, etc. even in hair and in sections.

(*b*) *Statistics*

M. Pignot, R. Rabut and E. Rivalier gave a report on dermatomycoses of the scalp at the „Ecole Lailler" of the Hôpital St. Louis. In 7 years 1,117 children were treated. 542 have had *tinea microsporina* (75 % *M. Audouini*, 25 % *M. lanosum*). In comparison with the statistics of Sabouraud from 1916 the occurrence of the latter parasite increased by 16 %. With *tinea trichophytina* they had 306 cases. The infecting agent was in 53 % *Tr. crateriforme*, in 22 % *Tr. acuminatum*, in 25 % *Tr. violaceum*. The increase of occurrence of the latter fungus is ascribed by the authors to immigration from Eastern Europe to Paris. *Favus* occured in 186 cases. The double infection of favus with *Trichophyton* and with *Microsporum* respectively was found once in each combination. Experiments in inoculating the skin of these patient with animal Trichophyta (*Tr. asteroides*, *granulosum*, *lacticolor*) failed. Intracutaneous tests were regularly made with culture filtrates. The reaction was similar to the intracutan tuberculin test. It did not always yield a positive reaction, but it seemed to be sufficient to exclude a *Trichophyton* infection in the presence of impetigo. Epilation with thallium failed in 50 % and it is to be used in the future only in cases in which X-ray treatment was without success.

A. Catanei (1938*d*) investigated the flora of the dermatomycoses in Algéria. Among the Trichophyta the commonest species were *Tr. glabrum* and *Tr. violaceum*. Other species occurred exceptionally. In cases of favus only *A. Schoenleini* was cultured. *M. Audouini* is rare and was found but twice. In 18 cases of Mycetoma *Nocardia madurae* was isolated. Actinomycosis showed a localization 15 times in the face, twice in the lungs and pleura. He succeeded three times in culturing *Cohnisteptothrix israeli*. Only one case of blastomycosis was observed with localization on the forearm; agent: *Cryptococcus montpellieri*. In many other cases it was doubtful whether the yeasts cultured had some etiologic significance. Sportrichosis is very rare. Only two cases were observed up to the present time with the *Rhinocladium Beurmanni* as the causative agent. Dermatitis verrucosa (agent: *Hormodendrum algeriense*) and multiple infectious granulomas of the skin caused by *Blastodendrion Braulti* were observed once in each case.

A. S. Zenin reported on the treatment and occurrence of dermatomycoses seen at the Venereologic Institute at Kuibyschew (USSR). Within 4 years they saw 1.666 cases of dermatomycoses. The causative agent was in 93.8 % *Tr. violaceum*. The Institute succeeded in the course of years by means of general instructions, better control of the school children and more exact detection of morbid cases in lowering the morbidity. In 1933 they had 1266, in 1936 only 451 cases of *tinea trichophytina*. In metropolitan areas they found 3.75 % of *favus*, in the country 12.2 %. It is pointed out that the occurrence of *favus* is almost equal among children before entering the scool and in school children. *Tinea microsporina* is extremely rare, they registered only four cases. As preventive measure the strict control of the barber shops is recommended. Cultural examination of different barber's utensils (shaving brush, combs, razors) yielded a great many positive results.

There are also a few statistical reports from the Far East. Shin Niizawa examined cases in Liaoyang, Tienring and in some regiments of the Japanese Army at Mukden. In 235 cases of dermatomycoses 165 strains of fungi were cultured. In *trichophytia pompholiciformis* he found mainly the *Epidermophyton interdigitale* Pristley, in „interdigital mycoses", *Tr. purpureum* Bang was more frequent. All together 10 different species of fungi were detected in the cultures. In four cases of simultaneous hand and foot lesions two different species: *Tr. interdigitale* and *purpureum* were found. Also in three cases of *eczema marginatum* Hebrae *Tr. interdigitale* was cultured.

A. Ariewitsch made an investigation on infection of *herpes tonsurans* (*tinea tonsurans*) of the scalp in adults. Examination of the surroundings of persons with mycotic infections revealed more than 1.000 cases of superficial mycotic infections of the scalp in adults, 962 female, and 47 male. This figure amounts to 10 % of all cases treated with mycotic scalp infection of the last 10 years. *Trichophyton* was found 985 times, *Microspo-*

rum 21 times, *Trichophyton* and *Favus* together only four times. In 4.3% of the cases infection was spread by children suffering from mycoses. In general, however, the infection with *Trichophyton* started in infancy and persisted until adult life so that the parents themselves proved to be the sources of infection of children.

N. Gohar's contribution is a first survey of ringworm in Egypt. In 300 cases four species of ringworm so far encountered by the author were: *Achorion Schoenleini* (Remak, 1845) 176 times (58.7%), *Tr. violaceum* (Bodin, 1902) 119 times (39.7%), *M. canis* (Bodin, 1904) 4 times (1.3%), *Tr. tonsurans* (Malmsten, 1845) once (.3%). Males and females proved to be nearly equally susceptible to infection with *Tr. violaceum*, the tendency being for a slight predilection of this fungus for male children who also are attacked with *favus* much more commonly than girls.

	Total	*A. schoenleini*	*Tr. violaceum*	*M. canis*	*Tr. tonsurans*
male . .	179	108 (60.3%)	68 (38%)	2 (1.1%)	1 (.5%)
female . .	121	68 (56.2%)	51 (42.1%)	2 (1.6%)	—

Favus is the predominant infection in Egypt, occurring mostly among country patients, and *Tr. violaceum* is common but not so prevalent and is distinctly more of a town species than *A. schoenleini*. Males are more liable to infection than females, the predisposition being more apparent in favus infection. A study of the clinical histories of cases of infection in the same family demonstrates the weak contagiousness of favus as compared with the other species causing ringworm. The data relating to incidence of infection at different ages and the duration in each case tend to show that children are more disposed to infection with *favus* between 5 and 8 years of age, and with *Tr. violaceum* between the age of 5 to 10. *Favus* is of great chronicity while infections with *Tr. violaceum* run a comparatively short course.

Da Fonseca gives us a survey of mycoses peculiar to South America. *Sporotrichosis*, *actinomycosis*, and *favus* are much less common than in Europe. On the other hand, the *Epidermiphyton* and *Trichophyton* attacking the glabrous skin are much more wide spread involving about 80% of the population. The commonest lesion seen is *intertrigo* of the feet, brought about by a plantar *Trichophyton* (!?). This disease is equally common in the United States of North America. Some *Endodermophyton* are found only among certain groups of the uncivilized Indians. These mycoses are found also among the savages of Micronesia and Polynesia, but are never found among civilized people whereever situated. The so-called chromoblastomycosis exhibiting large brown or even black aggregations on the leg is frequently seen. It occurs upon the lower limbs because of the close proximity to the soil. A black *favus* of the palms has been observed only in Brazil. Some blastomycoses of South America are always fatal. Among these is the mycosis of Lutz or neo-tropical blastomycosis, which has been incorrectly described as paracoccidioidal granuloma. It results from a fungus infection and it is always fatal. The mycosis of Gilchrist, a syndrome produced by a mixed infection with fungi is very rare in South America.

S. Milochevits and V. Eckersdorf reports on dermatomycosis of the scalp and on the campain against this disease in Jugoslavia. Interesting is the epidemiologic fact that *tinea microsporina* is caused in this country exclusively by *M. Audouini*. In eight years 526 cases of *tinea trichophytina*, 169 cases of *Microsporum* infection, and 224 cases of *favus* were observed. Most of the mycotic cases were reported from the Eastern part of the country with a rapid decrease toward the West. *Tinea microsporina* was observed only in Belgrade and in the Vojvodina. *Favus* was found mostly in the North and South of the old Serbia, in Bosnia, Herzegowina and Dalmatia. *Trichophyton violaceum* is the most frequent causative agent of *tinea trichophytina*. Boys are more often involved than girls. For epilation X-ray is largly used, Thallium very seldom.

A campain against dermatomycoses was effectively carried on in the Eastern Kasaktan territory in U.S.S.R. An expedition under the leadership of A. S. Okunj examined 10.089 persons mainly school children and 6.8% were found to suffer from fungus infections. Through energetic local and X-ray therapy they succeeded as subsequent controls

demonstrated in diminishing the occurrence of fungus diseases in this territory.

A. Bertoni gave an interesting account of the symptomatology and mycology of the fungus diseases occuring in Italian Africa.

(*c*) *Culture*

Higuti (1938*a*) discussing the superficial mycotic diseases of the skin states that he has never found pathogenic fungi upon the healthy skin of Japanese. Such fungi have been derived only from pathological lesions. He believes that fungi of the intestinal tract play an important part in such diseases.

A. Catanei (1938*c*) investigated the relation between the cultural characteristics of *Tr. violaceum* and *glabrum* and their pathogenicity for animals. Only cultures can be used for inoculation which harbor a great number of conidia. Rice medium was found appropriate to cause conidia formation in these trichophytas, and these cultures were pathogenic for the guinea-pig in a high percentage. The same author investigated the taxonomic position of *Tr. rubrum*. On parasitologic and experimental evidence he puts this species in the genus *Trichophyton* of the classification of Langeron and Milochewich.

S. Milochevitch and V. Eckersdorf examined the hairs in experimental dermatomycoses caused by pleomorphic strains of the dermatophyta. They found that the pleomorphic strains of fungi are not only morphologically similar in the culture but that they become similar to each other also in the manner in which they attack animal tissue. Different fungi from pleomorphic cultures behaved themselves as endothri in animal tissue. The *endothrix* character was peculiar: the mycelia lay far apart within the hair shaft, they were wound and mixt together, filling out the hair shaft and ending in a fringe. The pathogenicity of pleomorphic strains, a well known and long established fact, was greatly reduced.

S. Epstein advances an interesting hypothesis about the *Trichophyton interdigitale* being a degenerated *Tr. gypseum*. The basis of his hypothesis is the similarity of both fungi in the culture, the similar results of the animal experiments, the biologic and experimental behavior and finally his claim to success (!?) of a characteristic experimental „interdigital mycosis" caused by a typical strain of *Tr. gypseum*.

J. A. Gammel and J. L. Work describes a case of sycosis parasitaria due to *Favotrichophyton album* var. *singulare*. *Favotrichophyton singulare* Cazalbou is a variant of *Favotrichophyton album* Baudet (*Tr. faviforme album* Sabouraud.) The first case of *sycosis parasitaria* due to this fungus in the United States is described. The infection was probably acquired from „scabby sheep". It was pathogenic for the guinea-pig. „For the establishment of the characteristics of a dermatophyte it is necessary to study at least ten generations and a total of one hundred cultures. Ten hanging drop cultures or more should be observed for six months or longer."

S. Szathmáry reports on the different species of *Epidermophyton* in Hungary. The species *Epidermophyton* Kaufmann-Wolf and the *E. inguinale* are well known in every part of the country. In a few cases *E. rubrum* (*Tr. purpureum*) and *E. gypseum flavum* came under observation.

Szathmáry describes three new species of *Epidermophyton* which he cultured in two cases of pompholyx of the soles from scales and macerated epithelium particles: *Epidermophyton luteum*. On the right arm of a 16 year old farm boy, he found *Epidermophyton gypseum flavum* causing oval, roundish, inflammatory lesions 5 cm in diameter, clinically similar to a superficial *tinea trichophytina*. It proved to be pathogenic in experiment for humans and animals. Finally he cultured the *Epidermophyton sulphureum* in a case of pompholyx of the soles and macerated epithelium particles. Thorough macro- and microscopical descriptions are given.

(*d*) *Trichophyton*

(1) Clinic

Several observations of *granuloma trichophyticum* are on record.

J. Ferguson Smith observed chronic pustular granulomas in two children 9 and 13 years of age respectively. In one case the whole scrotum and the left groin was involved with a simultanesous *kerion Celsi* of the scalp. The second case showed a pustular eruption of the scalp, granulomatous lesion on the skin, on the lips and on the left arm. The cultural examination yielded in both cases Staphylo- and Streptococci repeatedly. Sections from the second case stained with Gram-Weigert, showed a fine mycelial network.

Clyde L. Cummer described a *Kerion Celsi* in an adult. The lesion was the size of a palm. The scalp was red, elevated, undermined, with follicular pustules. Upon removal of the thick crusts pus surged through many little holes. Causative agent: *Tr. gypseum lacticolor*. Healed by the internal administration of potassium iodide.

Morris Moore (1938*e*) reported a case of sycosis of the beard caused by *Ectotrichophyton mentagrophytes* var. *radiolatum* on the left side of the chin with swelling of the submandibular lymph nodes. The culture on Sabouraud's medium as well as on different other media was characteristic. Recovery by X-ray treatment.

T. Morikawa described a *granuloma trichophyticum Majocchii* caused by *Sabouraudites ruber* Castellani (*Tr. pupureum* Bang). The author pointed out in accordance with Majocchi that this condition is to be considered as a type of deep *Trichophyton* infection, yet different from *sycosis parasitaria* and from *kerion celsi*. *Sabouraudites ruber* Cast. is a very frequent parasite in Japan, yet it was the first time to be detected as a causative agent of *granuloma trichophyticum*. Two different types of the same species were found. Superficial skin lesions yielded strain A, morphologically identical with the type of *Sabouraudites ruber* Cast. Strain B, cultured from the deep portion of the granuloma showed a faviform culture, characterized by the lack of conidiospores (aleuries) and of spindle spores. In experiments the faviform strain caused granulom formation, while the inoculation of strain A (*Sabouraudites* type) was followed only by superficial lesions in the same patient.

The faviform strain (strain B) as well as *Tr. violaceum* and *Tr. faviforme album* caused in the same patient, in normal healthy control persons and in animals (rabbit, rat, mouse) similar granulom formation. Faviform species of *Trichophyton* (*Tr. faviforme alb.*, *Tr. violaceum*, the faviform dissociate of *Sabouraudites ruber* Cast.) are apt to cause granulomatous lesions, probably due to an adaptation of the mycelium and chlamydospore formation in the animal tissues.

V. Pardo Castello observed the first case of *keratomycosis nigricans palmaris* in Cuba. This condition is kin to the *tinea nigra* occurring in different tropical countries. The clinical picture of the condition is not uniform, there are differences in symptomatology, etiology and geographical distribution. This affection is to be differentiated also from *tinea nigro-circinata* of Castellani caused by the *Trichophyton ceylonense*. The author, in a critical comparison, studied the isolated species in relation with the genus *Dematium*, *Torula*, *Cladosporium*, *Pullularia*. Due to its characteristics the fungus was finally described as *Cladosporium Wernecki*.

In an important survey J. G. Hopkins presents the results of his investigations and his present views on „Ringworm and Moniliasis".

Among 6515 patients a diagnosis of some form of fungus infection of the skin was made in 442 cases so that perhaps 5% of the cases were dermatomycoses. He divides the common superficial fungus infections into 2 large and important groups, ringworm and moniliasis.

In the mycology of superficial ringworm or *dermatophytosis* Sabouraud's classification still holds. The causative agents vegetate only in the most superficial layer of the stratum corneum and though occasionally recovered from the blood stream or lymph nodes, there is no evidence that they survive there long. They never seem to grow into the corium or even into the deeper layers of the epidermis.

After surveying *microsporosis*, *trichophytosis*, *favus* of the scalp and beard, face, trunks, arms and legs he emphasizes the importance of the *dermatosmycosis* of the hands

and feet. The clinical pictures of the latter condition are varied: (1) intertriginous forms in the webs where *small vesicles* can often be seen early in the infection; (2) dyshidrotic forms with primary vesicles most frequently on the soles or sides of the foot, or the palmar surface of the hands and fingers; (3) eczematous forms on the palms and soles where vesicles have ruptured and dried; (4) hyperkeratotic forms, long standing cases of ringworm of the soles, where vesicles have not for a long time been discernible but where the horny layer is thickened and fissured, and somewhat desquamating. In the majority of cases no fungi can be found.

Concerning dermatophytids a rather important fact is emphasized which has a great and significant bearing on the subject: trichophytids usually appear as rather pointed minute follicular papules in groups surrounded by a red zone. They may show diffusely scattered lichenoid papules; there are types resembling *urticaria*, *erythema multiforme*, measles, scarlet fever and *erythema nodosum*. Dermatophytids from foot infections rarely if ever take the disseminated lichenoid form of trichophytids.

Under „moniliasis" the author considers (1) *erosio interdigitalis*, (2) *paronychia*, (3) perlèche, and (4) intertrigines, with the causative agent: *Monilia albicans* (thrush fungus).

In Hopkins' classification *moniliasis* is the least acceptable etiologic group. But he sees clearly the difficulty of the problem. He does not conceal the fact that *Monilia* gains foothold on the skin if it has been *macerated* by moisture. Where the „moisture" comes from has not been investigated. The diagnosis „moniliasis" is made on the basis of the culture. This method as a final and conclusive proof is entirely insufficient, because as Hopkin's himself states, *Monilia albicans* is found in the intestines with considerable regularity in sprue; but it is also found in the mouth and intestinal tracts of a number, estimated at 6%, of normal individuals.

„Monilids" as a most striking and uniform clinical picture is described. They occur „in children suffering from persistent generalized dermatitis of the scalp, perlèche, „often with circumoral dermatitis, chronic intertrigines of the fingers, toes, ears, axillae, „groins, and paronychias" — all lesions seen in true moniliasis in less exaggerated form.

We can not help but recognize in Hopkins' description all the clinical classical features of P. G. Unna's seborrheic dermatitis in whose scaly and oozing superficial detritus among other nosoparasites the most different species of yeast and yeastlike bodies can be culturally demonstrated as Benedek showed it almost a decade ago. Beside the cultural evidence for monilias as diagnostic proof of the „monilids" Hopkins laid special emphasis on the positive skin test with *Monilia* the specificity of which is debatable.

Seborrheic dermatitis is reviewed with regard to the recently reawakened interest in the relationship of the *Pityrosporon Malassez* to the *pityriasis capitis* and to the petaloid form of the seborrheic dermatitis. He concludes: „Evidence that this fungus is an ubiquitous parasite on the human skin has never been controverted and as yet there is no proof that it bears any causative relationship to the disease in question — nationally advertised brands to the contrary notwithstanding". (Cf. Kile and Engman on seborrheic dermatitis).

For the actual diagnosis of fugnus infections the author requires microscopic or cultural demonstration of the causative fungus. In *moniliasis* the superiority of the culture over slide examination is pointed out.

Hopkins is very critical of the significance of mycelium in nail scrapings. There is often a profuse mycelium which is thick walled and profusely granular and which does not look like the ordinary ringworm fungus. Also in cultures from lesions in which mycelium has sometimes been found on direct examination, — in Benedek's experience very often — only saprophytic molds are obtained.

As to the „sensitization" problem Hopkins declares that it can easily be understood that with parasites as widely disseminated as the *Trichophyton* and the *Monilia* many individuals would at some time or another in their lives become infected and so become sensitized. A reaction to trichophytin has as little diagnostic value as a reaction to tuberculin. It will be agreed by most who have studied the subject that a positive skin reaction is not diagnostic of the presence of an active infection.

Hopkins considers as a serious problem the treatment of „ringworm of the hands and feet". He emphasized that the study of the fungi offers *no solution* for many of our hand and foot problems. The similarity in appearance and course, of lesions in which fungi are found to others in which they seem not to be present leads one to suspect

that the fungus may not be the most important factor. The rôle of pyogenic cocci in these eruptions is far from being understood.

Hopkins, keen observer and investigator of great experience, sees clinical facts, realizes the doubtful value of many of the mycological results presented nowadays, makes a critical approach to the problems of allergy, so popular today, and above all, discusses some problems of modern mycology, which is perhaps the most valuable part of this contribution.

(2) Allergy

The question whether the trichophytin test is specific or not is as old as the discovery of trichophytin by Plato and Neisser at the turn of the century. From time to time series of investigations are published tending to decide the arguments poured out for the last four decades in positive or negative sense.

G. M. Lewis, G. M. MacKee and M. E. Hopper resume the task of proving the specificity, the diagnostic and prognostic value of the trichophytin test. In the last three years they carried out the trichophytin test on about 1000 patients. These were divided into three groups and tested with trichophytin, oidiomycin and a bacterial vaccine. They confirm the specificity of the trichophytin test on the basis that persons having a certain fungus infection showed in a high percentage positive reaction, while those in whom fungi could not be detected clinically or by laboratory methods reacted negatively in a high percentage.

With disregard of any other argument or objection to their conclusion concerning the presumed specificity of the trichophytin test we consider much more important for further discussion the thorough consideration of those cases having a negative *Trichophyton*-test with positive mycotic findings as well as those having a positive test with negative mycotic findings. The percentages of the reactions of the latter kind are so high that they can not and must not be overlooked in a theoretical discussion. Furthermore it will be agreed that the specificity of the *Trichophyton*-test is only a group-specificity. Even then, how can the group-specificity of the *Trichophyton* test be judged in cases reacting in equal manner to trichophytin, oidiomycin, and bacterial vaccine?

Hopkins and many others [1]) refuse with clear reasoning to attribute any specificity to the *Trichophyton* test. I can not but agree with these investigators.

How can a strong positive test with oidiomycin be considered specific even if the thrush fungus was detected in the mycotic lesion when we consider the fact that the inner (the digestive tract) and the outer surface of the integument permanently harbor many different kind of yeasts and yeastlike organisms.

The problem of solving the „specificity" of the trichophytin test does not rest with the question how high a percentage gives a positive trichophytin test in the presence of a mycotic lesion but it rests with the unsolved part of this argument: why patients do react highly positive without obvious clinical mycotic lesions. The authors do not seem to have taken into consideration this fundamental point in the discussion. As a whole, the paper does not bring any new facts, any new ideas which have not been told innumerable times during the last forty years. Furthermore there is another very important point with regard to the presumed specificity of these tests which is seldom mentioned and which has not been taken into consideration by Lewis and associates.

This fundamental question is concerning the chemical composition of the different brands of trichophytins, oidiomycins, bacterial vaccines. Investigations into the chemical structure and composition of the tuberculin showed clearly the extreme importance of this analysis. We know today that the different fractions in tuberculin are responsible for the different type of tissue reactions and probably for the clinical type of the lesions, too. We know from the chemical analysis of the pneumococci that the carriers of genus-specific and species-specific principles belong chemically to quite different reacting groups.

[1]) Broekema, J. H., Dermat. Wchschr. 91, 1014—1017, 1930; Kawasaki, Y, and Sh. Takahashi, Jap. J. Dermat. & Urol., 24, no. 2, p. 13, 1924; Peyrer, R., Wiener klin. Wchschr. 38, 147—149, 1925; Tarantelli, E., Gior. it. di dermat. e sif. 67, 557—589, 1926; Tolmach, Jesse A., and Eugene F. Traub, Arch. Dermat. & Syph. 28, 560—566, 1933.

These few remarks attempt to call attention to a virgin field which has to be ploughed up before we can seriously take up the discussion of the specificity of the trichophytin and other similar tests. It can be assumed that hyphomycetes (*Trichophyton*, *Microsporon*, etc.), have some common chemical components present also in yeasts and in bacteria. In which combination, to which extent, remains to be answered [1]).

Lewis and his associates overlooked, however, other fundamental facts. Benedek in a series of investigations found mycological, bacteriological and histopathological evidences that hyphomycetes as causative agents play in the so-called epidermomycosis of the palms and soles („athlete's foot") no etiological rôle whatsoever. In the so-called *„erosio interdigitalis blastomycetica"* yeasts and yeastlike organisms have no etiological rôle at all, both clinical pictures are hematogenous projections of a constant endoparasitism of the same bacillus: *B. endoparasiticus*. The primary lesions are in both clinical pictures vesicles. These cases give in a high percentage positive reaction both to trichophytin and to oidiomycin. The influence of saprophytic molds which are so often found as „Haft- or Anflugs-keime" must be taken into consideration, in judging the importance of the presence of these superficial fungi.

The research in allergy has to be more substantial, it has to relinquish wishful thinking and has to consider chiefly clinical facts and above all, histopathology of the primary lesion. Merely repeating arguments heard so often the last forty years, not taking into due consideration the results of newer knowledge in mycology and histopathology of these conditions, the discussion of this topic can not be brought to a logical conclusion.

Poul V. Marcussen discusses the significance of the immediate reaction of the intracutaneous trichophytin test in about 2.000 cases. He assumes that the immediate reaction may be due to the trichophytin itself but may also be due to the pepton contained in the media. The immediate reaction thus has no absolute diagnostic value although he concludes etiologically it depends on a mycotic infection and on an allergic disposition.

P. K. Fraser investigated the trichophytin test in tinea of the foot in a small series of 22 microscopically proved cases of tinea. 14 reacted strongly positive, four negative. Fraser quotes J. Rambsbottom (System of Bacteriology in Relation to Medicine, London) and for general consideration I want to re-quote him here:

„There is, however, a tendency on the part of some investigators to assume a fungal origin of a disease on insufficient evidence. It is not enough to postulate the parasitic nature of a disease and then, bacteria, protozoa, and other parasites being eliminated, to describe it as mycotic; the evidence must be as clear as that for any other parasitic group."

(*e*) *Microsporum*

Reports on *Microsporum* infection are very few.

T. Benedek (1938*a*) described a family endemic of *tinea microsporina* effecting three out of nine colored children. The causative agent was a new species: *Microsporum Stillianis*, Benedek, 1937, nov. sp., which showed a remarkable dissociation in the primary culture. The dissociates A and B could be carried on in subcultures for generations without

---

[1]) Werner Jadassohn and his associates [Jadassohn, W., Schaaf, F. & Wohler, G. (Zürich): Analyses of composite antigens by the Schultz-Dale technic; further experimental analyses of trichophytins. J. of Immun. 32: 203—227] already started some remarkable investigations concerning the antigen analyses in different species of hyphomycetes (*Achorion Schoeleini*, *A. Quinckeanum*, *Trichophyton gypseum*, *Epidermophyton* Kaufmann-Wolf). They found Trichophytins are a mixture of different antigens. They isolated one or several antigens from the abovementioned hyphomycetes. These antigens were not absolutely species-specific, because guinea-pigs immunized with Trichophytin reacted also to Oidiomycin in the Schultz-Dale experiment. Guinea pigs immunized with Oidiomycin react, however, to Trichophytin but slightly. The antigen analyses demonstrated the existence of common antigens in Trichophytin and in Oidiomycin. Some of the antigens were absolutely species-specific, some, however, showed only group-specificity.

returning to the mother type. Thorough description is given of the clinical picture and of the new species. For comparative examination of different species of *Microsporum* the rice medium of CONANT was used with excellent result.

Microsporum infection is very frequent in Chicago among colored children. The commonest causative agent found in culture is the *M. lanosum.*

Tinea microsporina erythemato-squamosa followed by microsporid was also observed by T. BENEDEK (1938*b*) in a 7 year old colored boy. He showed many squamous, slightly inflamed, round or oval patches, from 10 to 30 mm in diameter scattered all over the scalp. The patches were covered with asbestos like scales showing many characteristic hair stumps. Enlarged cervical, retro-auricular and axillary glands were also present. The culture yielded surprisingly *Microsporum equinum* Bodin. The boy was given X-ray treatment for total epilation in five areas, 275r each. Two weeks after the X-ray treatment when the hair started to fall out, he showed a lichenoid eruption all over the trunk, shoulders and upper arms. They were especially marked in the flanks. The papules were follicular, in color hardly different from the surrounding skin. The lichenoid lesions were isolated, showing no tendency to grouping. The scalp showed more marked scaling and exudation, covered with thick crusts and many pustules. Scales taken from the lichenoid lesions for culture as well as the blood culture remained negative. On the 12th day of the exanthem the papules became succulent, more elevated than before and with their increasing number they showed grouping with a tendency to extend in the line of cleavage in the flanks. The scalp showed more marked scaling, exudation and pustulation. At the same time the upper part of the chest presented a large number of eczematoid lesions. On the 16th day the lichenoid lesions showed mostly a tiny scale on the top, some of them even a horny spine.

Tinea microsporina with microsporids is extremely rare. Between 1921 and 1938 there was only a single report in the American literature, a case from BLUMENFELD-BOSTON (Arch. Dermat. & Syphil. 24: 607, 1931) who observed a six year old child with *kerion microsporicum* followed by papular exanthem and lichen spinulosus, *Microsporum lanosum* being the causative agent.

The presented case started as a *tinea microsporina erythemato-squamosa* followed, due to X-ray treatment, by a microsporid showing discrete and grouped papular, follicular lesions with minute scales and horny spines on the top, eczematoid lesions on the upper part of the chest, neck, chin and face. During the evolution of the generalized exanthem the squamous lesions of the scalp turned exudative, pustular, showing at the occiput and at both parietals a deeper infiltration and a kerionlike transformation of the condition. The second important feature is the finding of *Microsporum equinum* Bodin in a human infection which according to DODGE, seems to be the first case reported in the United States. *M. equinum* Bodin has been reported only in a few instances in human lesions. BODIN found it in France, BOSELLINI and PASINI in Italy, BANG in Denmark.

(*f*) *Favus*

Interest is still active in the clinical and mycological aspects of *favus.*

G. ARGENZIANO reported the rare occurrence of a primary infection with *Achorion Schoenleini* on the glabrous skin of the arm in a child. In children the transplantation of the infectious agent from scalp lesions to the glabrous skin is not uncommon. But in the presented case there was no other focus.

R. M. MONTGOMERY, MARY E. HOPPER and G. M. LEWIS examined a case of *favus* involving the toe nail. Infection is not common in the City of New York. Among 74.046 patients admitted to the Skin and Cancer Unit during 1935, 1936 and 1937 there were only 18 cases with *favus.* In their experience the concommitant involvement of the glabrous skin amounts to about 30% of all patients having infection of the scalp by *A. Schoenleini.* In the case reported there was an active involvement of the toe nail and evidence of healed lesions in the scalp and on one thumb nail. The patient was an American born woman, whose parents came from Poland. No other member of the family had *favus* and the origin of the disease was not discovered. No prior report of proved favus of a toe nail in the United States was found.

N. N. EPSTEIN and E. A. LEVIN, too, reported a case of *favus*, relatively rare in the

United States where most of the cases are found in foreign born individuals or in children of foreign born parents. The incidence is higher on the Atlantic seaboard although other sections of the United States are not free of it. Since 1925, 26 cases have been reported, a few cases also from Canada. The patient was a 16 year old white female. Alopecia, scarring and some scutula were observed in the scalp. The culture yielded *A. Schoenleini*. The case is the first one from California.

M. K. POLANO described an epidemic caused by *A. Schoenleini* in the Hague. In a shoeshop several sales persons developed a scaly skin diseases. Two sales women were examined showing erythemato-squamous lesions on the neck and lower arms. In all cases *A. quinckeanum* was cultured. An 8 year old boy showed beside the scaly lesions typical scutulae in the centre of the lesions. *Favus* caused by this fungus is extremely rare in Holland. A few cases were reported from Amsterdam and in army detachements at Leiden during the world war.

C. „Epidermophytosis" of the hands and feet

This most confused chapter of human mycology is just flooded with publications.

It is worth while to recall the fact that we are celebrating the first centenary of the birth of human mycology this year. In 1839 LANGENBECK discovered the thrush fungus, SCHOENLEIN the causative agent of the *favus*. Between 1841—43 DAVID GRUBY discovered the fungi of *Trichophytia*, *Microsporia* and re-discovered that of *favus*. After GRUBY the development of the human mycology, hardly started, was interrupted, due mainly to the ridicule of the leading contemporary authorities in dermatology, for half a century. Fifty years later SABOURAUD, working under the great protective authority of BESNIER, re-discovered the causative organisms of *Trichophytia*, *Microsporia* and so on between 1892—94 and published his epoch making work „Les Teignes" in 1910.

If one studies the chapter on mycosis (*trichophytia*) of the palms and soles in this classic volume, one is surprised at the fact that SABOURAUD [1]) set aside this *„mycosis"* from any other form of *epidermomycosis* at the first encounter with the problem. Why? Because he felt this *„mycosis"* of palms and soles is quite different from any other form of superficial dermatomycosis, he felt that hyphomycetes are in these lesions only a „smoke screen" and that the solution of the problems of these palmar and plantar *„epidermomycoses"* lies far beyond the ways and means of mycology. He faced the problem, he clearly saw the differences, the unsolved contradictions between these and any other mycotic conditions, but he never attacked this problem and, consequently, he never solved it.

During the first world war 1914—18 MARY KAUFMANN-WOLF discovered in 1916 the „white fungus", later called *Epidermophyton interdigitale*, in scales and in the roofs of blisters in lesions of palms and soles. This deed like a hurricane went through clinics and laboratories and most people believed that the problem of the most puzzling afflictions of palms and soles was solved. The general consensus was deeply disturbed by the negative statements of a few keen observers (among them SABOURAUD until his death). Nevertheless, under the influence of the school J. JADASSOHN—BR. BLOCH and their followers, and due partly to the great theoretical success of the allergic theory in mycoses (the „ids"!), the most amazing period in mycology sat in, research carried on with poor or entire lack of any criticism, based on analogies in other well founded chapters of mycology and based mainly on the doctrine of allergy and the glorification of the test tube.

The clear cut knowledge of the clinical course of the affection we are dealing with based on close and keen observation and the imperative necessity of studying the histopathology of the primary lesion by new and adequate methods were forgotten. The solid knowledge of facts of the older generation is honeycombed with mere speculation which has nothing to do with working hypothesis or theory formation. Clinical pictures on palms and soles are again confused with psoriasis, eczema, neurodermatitis, etc. and

[1]) R. SABOURAUD, Les Teignes, Paris, Masson & Co, 1910, p. 446. See also: Premier Congrès des Dermatologistes & Syphiligraphes de la langue française. Paris, Masson & Co. 1923, p. 43—56.

when a hyphomycete or a yeast emerge from the test tube after inoculation of scales as result of a superficiel scraping, the real „causative agent" is considered to have been recovered.

Confusion in clinical recognition of the real taxonomic position of the affection of the palms and soles; the entire lack of knowledge of the connection between the single clinical phases of the same entity; the most contradictory results of the allergy-testing methods and the conclusions derived from them, the entire want of histopathologic knowledge in the sense of histo-biology and the lagging research in this field; these are the main characteristics of the crop of the year 1938 in this matter.

G. M. Lewis, R. M. Montgomery and M. E. Hopper reported their investigations on „cutaneous manifestations" of *Tr. purpureum* Bang. In 100 patients (63 male, 37 female) the feet were involved 86 times (skin 72 times, nails 40 times, nails and skin 26 times). Hands were effected 39 times (skin 20 times, nails 28 times, skin and nails 9 times). The rest encompassed the trunk, the arms, the legs and the inguinal region.

The clinical descriptions and, above all, the illustrations of the conditions the authors give make it certain they were dealing in their palmar and plantar cases particularly with the chronic eczematoid and hyperkeratotic stage of pompholyx. Their differential diagnosis from psoriasis, arsenical keratosis, eczema, etc. is entirely without any value. Whether the skin is dull or bright red, more or less thickened or indurated, whether the scaling is fine and thin in comparison with the large flaky scale formed in psoriasis — they deal with the old hyperkeratotic stage of pompholyx. The absence of visible vesiculation in this stage of these affected areas is a permanent feature. The sharply marginated border along the outside of the foot between the infected and the normal skin on the dorsum of the foot, is without any differential diagnostic value. The same serpiginous outline is often present in the earliest stage of this affection when the field is covered with deep seated blisters.

The authors singled out *one* clinical phase in the course of a condition with protean clinical complexion. They recovered *Tr. purpureum* Bang in superficial, scaly detritus masses and believed confidently presented the clinical aspects of a „mycotic infection" with this fungus. If the authors will observe the continuous development of this condition of the palms and the soles starting with the primary vesicle and going through intertriginous, eczematoid, hyperkeratotic stages; and if they will properly consider the clinically identical cases without any mycotic findings in superficial scrapings and those with permanent findings of common molds (*Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*), they will correct their views.

Concerning *Epidermophyton rubrum* there are several publications in cases similar to those described by Lewis and his associates. Kj. Mossige found this fungus the first time in Norway. J. Godal in France, S. Ayres in California cultivated this dermatophyton from palms and soles with reddness and superficial scaling.

A Russian author, M. B. Potachnik informs us extensively about *epidermophytosis* in his country. He examined 122 attendants of a large swimming pool. 55 persons among them revealed slight intertrigo or maceration between the toes. Microscopic and cultural examination of all the 122 cases showed positive results 35 times. Further he investigated 100 clinical cases of *epidermophytosis*, microscopically with 77 % and culturally with 53 % positive results. *He found repeatedly fungi in scaly lesions from the palms, so he can not accept the conception of these hand lesions being „ids"*.

H. T. Kelly investigated *dermatophytosis* in connection with diabetes. He found clinically, of course, the same characteristics than found in patients without diabetes: (1) vesiculation and a parboiled appearance, (2) cracked toes (fissures), (3) soft corns, (4) eczema-like lesions of the dorsum of the foot, axilla, groin, hands, ears and anal region. In a group of 30 diabetics, suffering from dermatophytosis, Da Fonseca's vaccine (dermatomycol) was employed for a period of 5 months in addition to the usual routine local treatments. A total of 168 subcutaneous injections of dermatomycol was given at 5 to 7 days intervals; 16 patients received from 10 to 15 treatments. The average time of treatment was 8 and a half weeks per patients as compared with 16 weeks in a similar group of patients treated during the previous year with usual local routine therapeutic methods but without vaccine.

D. A. Berberian (1938*a*) deals in a similar sense with the *dermatophytosis* of the feet. He believes that stockings of patients suffering from „athlete's foot" are potential sources of

reinfection and probably the commonest of those sources. Not only is the fungus found in stockings of patients suffering from the infection, but it survives the ordinary process of laundering and it is capable of growing in the fabric. *Tr. interdigitale* is capable of growth on different kind of materials used as inner lining for shoes and also on wood, rock, moss, and seaweeds. Hence non-infected persons using the shoes of infected persons or walking on diving boards and on swimming grounds in public baths and gymnasiums are not only walking on infected grounds but actually they are walking on cultures of fungi capable of causing ringworm of the feet. A simplified and effective method of sterilizing the infected shoes and stockings of patients suffering from *dermatophytosis* of the feet is described. The use of all rubber slippers in gymnasiums and on swimming grounds is recommended as a means of safeguarding one's feet against the possibility or reinfection from „exogenous sources".

P. W. Schmidt (1938*a*) gives an account of our present knowledge of *epidermophytosis* with special reference to Germany. He divides the condition in three groups: (1) *Epidermophytosis* of the body; (2) *E.* of the skin folds (*eczema marginatum*); (3) *E.* of the hands and feet.

A. M. Memmesheimer (1938*a*) reports on the increase of *epidermophytosis* in Germany and the campain against it. *Epidermophytosis* has spread a great deal in the last ten years and he believes to have found the causative agent in the *E.* Kaufmann-Wolf. The condition is very often minsinterpreted, it appears often as a dyshidrotic affection, as *E. lamellosa sicca*, most frequently, however, it appears in the intertriginous form persisting for years without notice from the patients. The fungus can be recovered easily from the affected skin, form the dust of rooms, from the dirty layer of bathtubs, floorcoverings and woodwork of swimming pools.

From my personal experience for a long period of years I can add that the surprising increase of *epidermophytosis* in Germany is only relative. The condition was very well known by older generations, at least in Germany, under the label of *eczema dyshidroticum*. Nowadays, of course, the tremendous propaganda in health journals and in the daily press has awakened the people. They observe themselves better, they go more frequently to the doctor, the affection is more frequently seen and diagnosed, therefore the greater publicity for this condition and its seemingly great, jumping increase. The condition was known at a time when everything was diagnosed as *eczema* where the investigator was at a loss to find a better diagnosis. This period was after all the first one setting apart this condition from any others. The second period brought the seemingly great discovery of fungi in these conditions. Then they changed from *eczema* to *dermatomycosis*. That was a second error. The third period will be the recognition that fungi as exogenous secondary invaders of the uppermost layer of the skin affected do not play any etiologic and causative rôle in these conditions. Very few investigators have as yet reached this stage of recognition of the essentials of these conditions of the hands and feet.

D. T. Prehn made extensive investigations in the U.S. Navy examining 1500 men on 11 men-o-war. Among them 92 % revealed some sort of superficial fungus infections. 88 % showed ringworm of the feet and the toes, in 15 % the scrotal region was involved along with anal and femoro-scrotal region, 1.8 % the hands, 2.3 % the axillae and 2.3 % the external auditory canal was involved. The therapeutic experiences with the different means recommended commonly, were unsatisfactory. 520 men were treated prophylactically with sodium thiosulphate-foot-baths. In five months the morbidity dropped from 93 % to 25 %. In the more severe cases the sodium thiosulphate-bath made the condition worse. Excellent prophylactic results were obtained using a powder: Acid. salicylic. 5.0, Menthol 2.0, Camphor 8.0, Acid. boric. 50.0, starch 35.0. Within two weeks the morbidity dropped from 91 % to 30 %, after one month to less than 5 %, after two months no cases were found.

J. A. Meledy, of the U.S. Army, recommended also a powder for prophylaxis and treatment of the *epidermophytosis* of the feet, consisting of sodiumthiosulphate, thymol, starch, boric acid, and ol. absynthii as deodorant. An efficient drug was not found for similar condition of the palms.

S. Lomholt reported serial investigations in 1400 school children in Copenhagen. 33 to 50 % of the children revealed *epidermophytosis interdigitalis*. In more than 90 % of the cases *E. interdigitale* was found. Trichophytin reaction was usually positive, if it

was not, the condition was a pure *blastomycosis*! It is unnecessary to repeat again the superficiality and the fallacies which entail the exclusive and undisturbed use of the quick and handy method of test tube cultures and the meaningless test for trichophytin allergy. Nevertheless, the author considers the frequent findings of yeasts from the interdigital spaces rather as nosoparasites than real causative agents. In therapy and prophylaxis he used a drug called „mykokt", a paraoxybenzoyl ethylester.

Jesse A. Tolmach and Eugene F. Traub made attempts to treat *epidermophytosis* with vaccines. 65 patients with *dermatophytosis*, *dermatophytosis* with 'ids' and *tinea capitis* were treated with fungus vaccines. Three different vaccines were used, two were prepared in their own laboratories (heat-killed vaccine, acid-killed vaccine) and the third one was commercial (dermatomycol). Over 60 % of the patients were uninfluenced by the treatment. About 9 % were apparently cured. The reports of cure and improvements are considered by the authors as subject to question. Vaccine treatment of the type used is not yet practical.

Jan Obrtel's (1938*b*) investigations dealt with the occurrence of *eczema marginatum* in Tschecho-Slovakia. He was able to recognize from the type of the clinical lesions the species of the causative fungus! The *Epidermophyton inguinale* attacks intertriginous surfaces, while the *E. purpureum* almost exclusively occurs on the trunk and extremities. He differentiates a *bacterial eczema marginatum* seen in fat persons in the inguinal and anal regions!!

Jausion and Giard investigated the question of the „petites parakératoses" in persons suffering from *epidermophytosis*.

For the orientation of those who do not read French literature in the original it must be explained that the term „parakératose" of the French literature signifies sometimes lesions like *pityriasis rosea* („parakératose pityriasiforme") when the scales are fine, brany, sometimes lesions showing a heavier, silvery scaling like lesions in *psoriasis vulgaris* („parakératose psoriatiforme").

Jausion and Giard call attention to the „hyperkeratotic form" of pompholyx of the American school. They not only presume that the fungi (hyphomycetes, yeasts) found in intertriginous lesions of the skin folds, in interdigital spaces are the causative organisms of the condition but that their dead elements and metabolic products on the skin cause in cases of longer duration a sensibilisation which leads to these „parakeratotic" conditions. The evidences advanced: in 211 persons, surely free of any fungus infection and giving a negative intracutaneous test with a fungus extract there were only 18 persons with hyperkeratotic patches. In 277 persons (inguinal *epidermophytosis*) and in 121 interdigital affections there were 203 persons with this type of reaction. The scaly patches showed mainly a „psoriatiform" character, only in 16 cases was the scaliness „pityriasiform".

The authors' dealing with the subject is rather speculative. It is established knowledge that fungi found in *epidermomycosis* (hyphomycetes, yeasts) never vegetate else where except the stratum disjunction of the corneal layer. How dead fungal elements and their metabolic products may cause hyperkeratotic changes of an area is not clear. Histologic examination clearly shows an inflammatory process originating in the corium and entailing acanthosis and spongiosis in the rete Malpighii. A hyper- and much more a para-keratosis is the sequel of the former primary process, whether there are fungi of any description in the str. corneum or not.

H. Schuermann contributed one of the most comprehensive clinical papers on „dyshidrotic exanthemata" based on 1630 cases of the Berlin Skin Clinic. With deep regret we survey this investigation. Not only that the author could not master this large material from the clinical point of view, but he showed at the same time the thorough hopelessness of the application of the morphologic viewpoint for the sake of further progress in dermatology. The morphological criterion was the only one which we possessed at the beginning of the modern dermatological era about one hundred years ago, to bring order into the chaos of dermatoses. This method has had absolute justification and yielded great success. Later on, due to a super-evaluation, the morphological trend came to a deadend separating different phases of the same etiological entity. The consequence was and still is an utmost confusion.

It was an interesting point in the descriptive dermatology to use the primary lesion as the principle of order in the classification of the dermatoses. Outstanding evidences in

this sense were the contribution of J. Darier in his „Précis de Dermatologie" and that of Ehrmann in his „Atlas of the Differential Diagnostic of Skin Diseases". The consequence of this method of investigation was that dermatoses of the most widely different etiologic origin were put into the same morphological group.

If one does not recognize in advance that this morphological trend in dermatology as the principle of order came long ago to an end, one must surely fail in his endeavor to bring progress in dermatology. H. Schuermann proves this in his paper. The extreme confusion brought about by his morphological viewpoint appears once more under the heading „dyshidrotic exanthemata" of the palms and soles, mycoses and mycids, *pyodermia*, *dermatitis* and *eczema*, hematotoxic exanthemata and *dyshidrosis vera.*

He worked up the material of the Berlin Skin Clinic for the last five years, 1933 to 1937. In the outpatient department 59.200 patients were registered. Among those there were 1630 patients with „dyshidrotic exanthemata", 2.7% of the grand total. 1185 patients were female, and 445 male. Women were observed two or three times as often as men, ratio: 73% to 27%. The „dyshidrotic exanthemata" are determined seasonnally, in spring and midsummer, with peaks in May and August.

Dyshidrosis lamellosa sicca was found 61 times (3.8%) among 1630 patients. Fungi were found only five times. For the author this condition is a syndrom caused by quite different etiological agent and it is discarded from the other type of *dyshidrosis* because of its not showing any vesicles in the gross morphology.

We learn further that the „dyshidrotic mycosis" are characterized by the superficial (!!) location of the primary lesion (vesicle), while the „dyshidrotic pyodermia" demonstrates „subcorneal pus-troughs". Lymphangitis and lymphadenitis with fever are present, and streptococci are found in the pustules. Great stress is layed on the „group-formation" of the blisters, whether the lesion is sharply defined or whether it is showing an indefinite border. The author found it easy to differentiate morphologically the „dyshidrotic pyodermia" from the „dyshidrotic mycosis", the situation becomes more difficult when *psoriasis pustulosa* should be taken into consideration. Among 1630 cases 92 times (6%) „dyshidrotic pyodermia" was found.

Concerning dyshidrotic „exogenous" dermatitis, and dyshidrotic eczemas he found the failure of any anti-eczematic therapy. He holds that the dyshidrotic eczema might be either a special form of the true eczema (!!) or they show only secondarily an „eczematization", consequently they should be something different from the true eczemas.

Under „dyshidrotic hematogen-toxic exanthemata" pictures were classified which appeared on palms and soles, purely dyshidrotic, after the administration of some drugs (iodine, antipyrin, salicylate). The blister content was „sterile". What the author wanted to detect in the blister contents is, however, not revealed. Since the dyshidrotic exanthemata recurred often on palms and soles, if the drug was taken anew after an elaps of time, they are considered as „fixed dyshidrotic drug eruptions". This picture was observed 28 times (1.7%), 20 women and 8 men. Within this group another differentiation is also made for those cases of dyshidrotic toxic exanthemata of „unknown" etiology. They are similar to the former, almost identical with the „idiopathic dyshidrosis" in sensu Tilbury Fox. Since this picture appears on palms and soles recurrently due to an unknown cause, they are termed „fixed autotoxic dyshidrotic exanthemata". The last group comprises the „idiopathic dyshidrosis", the existence of which could not discarded by the author.

We regret to be forced to disagree with the author in his assumption that he brought an enrichment and some clarification in this matter. What he brought, is the utmost confusion.

What is the striking results of this morphological trend of analysis? If identical blisters appeared on palms and soles in a patient after taking some drug and the eruption recurred after a while at a subsequent administration of the same drug: it was a fixed dyshidrotic eruption; if the same exanthem appeared in connection with gastrointestinal disturbance: it was a fixed autotoxic dyshidrotic exanthema. If fungi were detected, it was a fungus disease, if streptococci were found, it was a pyodermia, and finally when nothing could be found as etiological agent, it was an idiopathic dyshidrosis.

Thorough histological study of the primary lesions, using special staining technic and cultural methods suggested long time ago by Benedek would have saved the author from this regrettable confusion which unvolontarily reminds the darkest time of the natural philosophy (Naturphilosophie) in the medicine at the beginning of the 19. century.

D. General biology and therapy

One of the most outstanding German authorities in our field A. Buschke gave a symposium on the biologic effect and the medical and social significance of thallium therapy based mainly on his own and on his associates' experiences during the last decades. His pioneer work and his thorough investigations on the subject justify to go into detailed review of this contribution.

Thallium was discovered by Crookes, 1861. The first publications dealt with the toxic effect of the compound (Marmé, Blake, Luck & Curti), but in these early days thallium had no medical application as a drug. Later it was tried as an inhibitory drug against night sweat [Combenale, Huchard, Vasseaux, Jeanselme (1898), Giovanni (1899)]. The inhibition of sweat production is according to Buschke's experiments peripheral.

The first observation of the depilatory effect of the thallium acetate was made on tuberculous patients, who responded shortly after the administration of the drug in small doses with an extensive hair fall. But due to the highly toxic effect the drug fell quickly into oblivion. Sabouraud (1910) was the first to exploit the depilatory effect of the drug in *sycosis* and in *hypertrichosis*. He tried to use thallium acetate as a salve applied to the parts of the skin to be epilated, as internal administration seemed to him too dangerous. But he soon stopped using this depilatory method because of the danger connected with it.

Cicero and Urueña started in Mexico in 1918 to use thallium as a depilatory drug in cases of mycosis of the scalp in children with good result. Covisa (1923) introduced the method in Spain, Fiocco (1924) in Italy, Buschke and Langer (1926) in Germany.

The basis for the use of thallium as a depilatory are the experiments on thallium-alopecia in animals carried out at first by Buschke (1900) and continued in the following decades by him and his numerous associates. As to the pharmacodynamic effect of thallium it can be assumed with the greatest probability that the depilatory effect occurs through the endocrine-vegetative system. Young rats fed with thallium, showed a selective effect of the drug upon the hair but many other correlated symptoms also appeared if the animals were fed for long with thallium. With the progressive loss of hair the young animals lagged in growth and development, sexual functions diminished and turbidity of the lens appeared. The mucous membrane of the stomach showed the picture of an inflammatory-proliferative process, while the skeleton demonstrated an extreme softness and pliability of the bones with deformities.

Nursing rats fed with thallium showed a different picture than the young ones. While the mothers did not show any symptoms related to the feeding, the young ones demonstrated the typical symptoms of thallium poisoning. Other changes are: eczematous condition of the skin, blepharitis, changes in the blood picture: lymphocytosis, eosinophilia, slight polychromasia and poikylocytosis are the common findings. If the feeding with thallium is stopped, the hair grow back very quickly with normal luster and thickness.

Acute poisoning of the animals starts in accordance with almost all the investigators, with disturbances of the digestive tract and with nervous symptoms. The animals became apathetic, the gait becomes insecure, atactic, and this is followed by paresis of the extremities. Trembling, twitching in the muscles, severe tonic-clonic cramps appear. Exitus occurs with a tetanus-like cramp.

Thallium as the practice showed is tolerated with bad effect in larger doses by grown-ups, the depilatory dose being very near the toxic dose. On the contrary, children selected up to a certain age tolerate the drug in correct dosage very well without any untoward effect, provided the children selected are quite well developed and well fed.

The general dosage of thallium is 8 mgm thallium aceticum oxydulatum pro kgm body weight, in younger children even less than 5 mgm pro kgm, while some observers saw good results in older children giving 8 to 10 mgm of the drug pro kgm weight.

Buschke urgently advises not to raise the dose over 8 mgm/kgm weight; never to give fractional doses, the toxic danger being too great due to the accumulative effect. As to the administration the child is weighed naked, with empty stomach and gets at once (!) one dose of thallium of 8 mgm/kgm body weight. About one week later the hair of the scalp start falling out and the 16. to 20.th day the epilation is usually complete.

Very resistent to the epilation by thallium is a strip of hair at the border of the scalp at the forehead and the nasal part of the eyebrows. In general eyebrows and body hairs are almost never epilated, lanugo hairs are entirely refractory. The regeneration starts already after 3 to 4 weeks, a thin and colorless hair appears, after 2 to 3 months the hairs are entirely normal again. The main indication for thallium is the mycotic infection of the scalp (*Trichophyton*, *Microsporon*, *favus*). Beside this, a disinfectant treatment (iodine, sulphur) is necessary.

Concerning the success of the thallium treatment opinions are contradictory. While many authors prefer the method and emphasize the technical simplicity in comparison with X-ray epilation, others discard it entirely. It is, however, valuable treatment for small children and in places where X-rays are unobtainable. This method made it possible to fight dermatomycoses of the scalp with success in Mexico, Russia, China.

The untoward effects connected with the administration of thallium can be avoided by due consideration of all the precautionary measures: exact dosage, selection of well fed, well developed children, limitation of the application of the drug to the pre-puberty period (not beyond the 12th year of age!). Slight poisonous effects can hardly be avoided entirely: as pain in the extremities, especially in the calves, knee joints, headache, malaise, prostration, vomiting, an achlorhydria or hyperchlorhydria of the stomach, changes in the red and white blood picture, eosinophilia. The severe symptoms of thallium poisoning show nervous origin. Pain in the muscles, and joints, lasting sometimes for several weeks, hyperesthesia, numbness, disturbances of the bladder, polyneuritis, paresis, paralysis are described. Severe sleeplesness or depression with somnolence, psychic disturbances with total imbecillity are observed. Eye and ear disturbances, retrobulbar neuritis with central scotom, optic neuritis and optic atrophy are on record. Fatal cases after therapeutic administration of the drug have been reported. KARRENBERG found up to 1933 20 cases in the literature, which concerned, however, cases with wrong dosage, unsuitable patients (adults, children over prepuberty, undernourrished children).

Despite the bad results with grave untoward effect observed in early days by SABOURAUD after using thallium acetate applied locally and despite the urgent warnings of A. BUSCHKE to use the drug only by oral administration, one can find reports of the local application of this dangerous drug. E. JANSEN treated three children of 3, 2 and a half, and 1 and a quarter year of age respectively for *favus* infection of the scalp by means of a 1% thallium acetate solution administered drop by drop on the infected spots. In each case a solution of 30 mgm thallium acetate in 3 cc water was applied. After the treatment each spot was covered up with sterile gauze for 14 days. After 3 to 5 weeks the hair fell out on the treated spots. All the affected spots were kept under control for 2 months by application of a sulphur-salicylic salve and manual epilation. In one child a recurrence was observed after 2 and a half months. All the three children were cured. The restitution of the hair was complete after six months. According to the experience of SABOURAUD, A. BUSCHKE and others we must warn against local application of this drug.

E. O. ANGELIOUK treated fungus infections of the scalp with good result with a 50% hyposulfite solution and 5% hydrochloric acid according to the method of DEMJANOVIĆ after total epilation by X-rays. After epilation the scalp is rubbed with one of the solutions then in 15 minutes with the other. This is repeated three times a day. Such a course is given every 6th day for from one month to one month and a half. For cleansing the diseased skin cotton swabs soaked with 3 to 5% carbolic acid solution are used for from 1 to 1 and $^1/_2$ minutes instead of water and soap. The same method is claimed to be useful for onychomycosis.

S. C. SHANKS used X-ray for epilation of the scalp by the 5-field method according to ADAMSON-KIENBOECK and the 4-field method of MOLESWORTH. The X-ray dose was in case of the 5-field method 1.97 times the epilation dose at the crossing of the fields, while in case of the 4-field method only 1.45 times. Consequently the 4-field method is less dangerous. With the 4-field method 100 patients were treated with prompt total epilation in 93%. In five of these patient small bands of hair remained at the forehead border, at the lower neck border and over the sagittal suture. Only twice was the epilation unsatisfactory. Young children received 400 r over the vertex, 380 over the other parts, while older children were given 420 r and 400 r respectively.

Several authors have discussed the campain against fungus diseases in the field of

organisation. W. Levitan basing his experiences on 2000 cases in Soviet Russia, recommends the strict control of the children by parents and teachers, enlightment of the population, establishment of Central federal dispenseries for treatment. L. Freund in Vienna advocates especially in the campain against *favus* the foundation of an international committee in order to carry on unified efforts throughout the world.

K. v. Berde also emphazises the necessity for a central organization in the campain against fungus diseases. In the year 1936 the special department of the hospitals in Hungary harbored 3025 patients with fungus infections. He points out the great material loss, due to the loss of working time, cost of treatment, and the disturbances in the schooling of the children.

A. Kissmeyer repeated the experiments of Jersild as to the treatment of epidermomycoses of the hands and feet by means of iontophoresis. A solution of a 1% copper sulphate is placed in a china sink connected with the positive pole of the galvanic current. The patient puts his diseased limb into the solution and sits with the bareskin upon a flat metal plate connected with the negative pole. This plate is kept wet with a saline solution. Intensity of the current 15 to 20 mA. Duration of the daily treatment: half an hour. In general 4—5 treatments were necessary.

C. Guy Lane and G. M. Crawford carried out investigations on the measurement of Roentgen therapy for *tinea capitis* with the attempt to determine the correlation of the epilation dose with the dose expressed in roentgens. The relation of the epilation dose to the r unit is changing and only greater exactitude in the physical measurement will make the results uniform. The authors prefer the five field irradiation at 20 cm focus-skin distance. 100 kV and 5 mA, at an intensity of 250 to 360 r per minute. The center of the first field is in the sagittal line, equidistant from the frontal and occipital borders of the hair. The other centers are $12^1/_2$ cm distant from the first one and from each other. By means of this technic they obtained satisfactory epilation in 95% with a dose of 300 r, and in about 90% with 280 r. The results were more unfavorable in children with brown hair than in blond or dark haired individuals. The individual differences were found to be great. Since the total cure is obtainable with a 60 to 75% epilation, the authors recommend 300 r as an epilation dose.

In the discussion McKee agreed with the authors on 300 r, yet even 400 r can be given without any danger. Andrews' epilation dose is from 270 r to 350 r.

E. Blastomycoses

(*a*) *Mycology of yeasts and yeastlike organisms*

C. Cavallero investigated the variation and dissociation of *Mycotorula albicans*. Ten one-cell-cultures of *Mycotorula albicans*, R-type and S-type, were examined as to their cultural, morphological and biochemical characteristics. In *Mycotorula albicans* the two dissociates can be obtained by means of certain cultural methods or through passage in a sensitive animal. The dissociation of the mother-culture progresses step by step with numerous intermediate types. Morphologically the process is characterized by a multiplicity of cell forms. The cultural variations of the dissociates involve variations in morphology, pathogenicity, and behavior in unspecific agglutination. A simultaneous change concerning Gram staining was never seen. Extreme and intermediate types of the dissociates are very much inconstant. The breadth of variation of *M. albicans* is great. R and S dissociates of *M. albicans* are not identical with R and S dissociates described by Arkwright in the Colon-typhoid-group. Because of these facts the author does not attribute any value to the cultural characteristics and pathogenicity in the taxonomic investigation. The dissociation in R and S is considered as a biologic reaction to the variant life condition.

Aldo Castellani (1938*a*) succeeded the second time in isolating from the sputum of a case of bronchial infection smooth and rough forms of *Monilia tropicalis*. The two strains may be considered to be biochemically identical, and they both give the typical reaction of *M. tropicalis*. The microscopic examination did not show any definite difference between the two strains with regard to morphology and the size of the cells. The rough strain possibly showed a slightly larger amount of pseudomycelium present. For the following

three months of observation the dissociates kept their true aspect in subcultures. (The previous isolation in 1935 showed the R type becoming smooth four months after the isolation and this has remained smooth ever since.).

Th. W. Keiper (1938*a*) investigated the resistence of *Monilia* to adverse conditions. The results of the fungicidal tests with the various chemical agents on the 13 strains of *Monilia* studied demonstrated that the common so called fungicides: thymol, chlorotone, sodium benzoate, copper sulphate, sodium thiosulphate and fuchsin had no moniliacidal power even with a 30 minutes exposure. Mercuric chloride 1 : 1000 and cresol 1 % were very efficient. Tct. of iodine, metaphen, and merthiolate are very good fungicides for monilia. Pasteurization does not kill monilia. Boiling for ten minutes or longer kills these fungi.

Cl. P. Jones and D. S. Martin dealt with the identification of yeastlike organisms isolated from the vaginal tracts of pregnant and non-pregnant women. The strains isolated from the vaginal tracts were identified as follows: *Monilla albicans* (19 times), *M. parapsilosis* (3 times), *M. candida* (4 times), *M. krusei* (4 times), *M. stellatoidea* n.sp. (29 times) *Cryptococcus sp.* (9 times).

The new species, *M. stellatoidea*, n.sp. Jones and Martin, resembled *M. albicans* very closely on Sabouraud's dextrose agar and presented a very characteristic appearance on blood agar. The surface was heaped up in the center and from this zone „arms" radiated in an irregular fashion. These projections were thick near the center and narrowed at the periphery, giving the colony an appearance not unlike that of a „star in the sky" with its surrounding radiation of light. 68 strains of yeastlike organisms have been isolated from the vaginal tracts of 52 pregnant (32 %) and 16 non-pregnant (14 %) women.

Very interesting investigations were carried out on the growth of yeast in the magnetic field by Grace C. Kimball. When old yeast cells are placed on the surface of a favorable solid medium, the magnetic field of a small horseshoe magnet retards the rate of bud formation by about 20 to 30 %. Shields of glass or of paraffin placed between the magnet and the yeast do not interfere with the inhibitory action, but an iron shield prevents it. The non-magnetic end of the horseshoe magnet produces no effect. A paraffin block, not wider than the poles, used as a shield, deflects the lines of force sufficiently to change the curve of inhibition effects. The yeast cells are sensitive to the action of the magnetic field only during the last half of the lag phase. Five minutes exposure causes inhibition; 10, 15 and 17 minutes produce no effect. 20, 25, 30, 60 and 150 minutes are inhibitory. Any effect on the yeast buds is always associated with a heterogenous field. Homogenous fields [1]) produce no effect. The most probable explanation is that some essential molecules in the cell are moved from their location, thus interrupting the normal progress of anabolism.

Ö. Winge and O. Lansten carried out important experiment on the arteficial species hybridization in yeasts. Spores of baking yeast (a type allied to *Saccharomyces ellipsoideus*) and spores of *S. validus* were placed in pairs within droplets of culture solution by means of micromanipulator. A hybridzygote was produced and from the zygote a diploid yeast hybrid was grown. The hybrid is in its appearance intermediate between the parental types though it resembles the baking yeast in shape of the cells and in appearance of its giant colonies. The spore formation of the yeast hybrid is good but the germinative power of isolated spores is very poor, being less than 2 %, compared with about 67 % in the parental types. Spore-zygotes are rare in the hybrid but very frequent in the parental types. The hybrid showed segregation in the progeny from single spores but the segregated types produced very slow growing giant colonies on gelatine plates. The hybrid itself is exceedingly vigorous of growth probably due to heterosis. All analyses of its growing rate showed superiority to the parental species. Both the degree of fermentation in wort and the rate of dry weight formation in synthetic culture solution were highest in the hybrid.

Kentaro Higuti (1938*d*) carried out inoculations with pathogenic yeasts in animals. He inoculated pathogenic yeasts in different ways in rabbits, mice, guinea-pigs, and rats, studying the pathologic changes clinically and histologically. By percutaneous inoculation a crust was formed consisting of a layer of leucocytes with a great number of yeast cells

[1]) Magnetic field is called homogenous, if the lines of force run straight, parallel and equidistant.

and mycelia. They never transgressed the str. corneum. By the intraperitoneal route in rabbits, guinea-pigs and rats the omentum grew together with some loops of the guts surrounding abscesses. Fungi disappeared very soon. By intravenous inoculation miliary nodules consisting of microabscesses were found in kidney, liver and heart tissue. On the oral mucous membrane of young rabbits the fungi grew causing a white layer on the tongue and oesophagus. The mycelia intruded into the upper layer of the mucous membrane.

(b) Yeasts and yeastlike organisms as saprophytes on the inner and outer surface of the body.

Kosuke Imai examined the occurrence of yeasts on the clinically normal and diseased skin. From scales of 17 different skin areas of 26 clinically healthy persons, of four patients with eczema and dermatitis medicamentosa 41 yeast strains were cultured. Ten of these belonged to the genus *Myceloblastanon*, all the rest were Cryptococci. Six of the *Myceloblastanon* strains were pathogenic for the skin of the rabbit; the pathogenicity of eight strains was uncertain and 27 strains, among them 20 strains of *Rhodotorula*, were apathogenic. Scales from the commissure of the lips yielded yeasts five times, scales of the anal cleft once. In these cases the same strains were isolated from sputum and faeces.

These findings should engage the special attention of those who warmly advocate the „etiologic" group of „moniliasis" and „monilid".

Kentaro Higuti (1938*c*) carried out comparative examination of yeasts from the sputum and faeces in mother and infant. In 40 % of 60 pairs of cases the results were positive and identical in mother and child. In 25 % only the mothers, and in 8 % only the children gave a positive culture.

The same author (1938*a*) made investigations on the socalled „superficial" blastomycosis of the skin. From the 51 cases observed eleven were *erythema mycoticum infantile*, 5 intertrigines, 9 *erosio interdigitalis*, 3 *eczema ani* and one *intertrigo submammalis*. The mycoses were divided into groups: dry and oozing forms. In nearly all cases heaps of yeastlike bodies and mycelia could be seen and cultured. All the strains were anascogenous yeasts. The intracutaneous reaction was slightly positive or negative, complement fixation test often positive, agglutination 1 : 50 to 1 : 400 positive. The oozing forms showed more marked immunological reactions. In 25 patients the same yeast strains could be obtained from sputum and feces.

K. Higuti (1938*b*) cultivated in another series of investigation of 186 different skin affections 68 (37 %) pathogenic and apathogenic yeasts. Concerning their classification ascus formation, mycelial growth and the fermentation reaction were applied. Okabe's ascus seems not to be identical with the real ascus of the ascomycetes. As to the mycelial growth almost all the pathogenic strains belonged to the genus *Candida*, *Mycotorula* and *Blastodendrion*, Langeron and Talice.

C. C. Croft and L. A. Black (1938*b*) carried out investigations on yeastlike fungi isolated from the normal skin. From the normal skin of the tips of the fingers and the nails of 100 persons 29 yeastlike fungi could be isolated in 22 cases. Skin kept wet long periods by the occupation (kitchen worker, laboratory workers, housewives) showed fungi more frequently than the skin kept dry. Twelve strains proved to be a *Monilia parapsilosis*-like fungus. For the first time four *Endomyces* species were isolated from normal skin; two species of *Cryptococcus*, one *Schizosaccharomyces hominis*, and three other species of yeasts remained unidentified. *Monilia albicans* or other known pathogens were not detected from the normal skin. The authors conclude, of course, that the most varied species of yeasts and yeast like bodies can live as saprophytes on the normal skin.

M. Langeron and P. Guerra have made new contribution to medical zymology. After a historical and critical introduction they describe the way to differentiate yeasts and yeastlike fungi, their purification, the examination of the ascorpores and their different staining methods; the form of the giant cultures on solid media with carbohydrates, the method of microscopic examination of the giant cultures. They also describe the method of culture on slides and on slides with a gelatine layer, the culture in alcohol, the auxanograme of the carbohydrates and the nitrogen. In a second part they discuss the 16 species of yeast which they presume are the only valid types in medical

mycology. All the 16 species are put in one single genus *Candida* and divided into 7 groups: (1) *albicans*, (2) *tropicalis*, (3) *pseudotropicalis*, (4) *guilliermondii*, (5) *krusei*, (6) *brumpti*, (7) *azymatique*. The species most frequent in human pathology are: (*a*) *Candida albicans* (mucous membrane of the mouth), (*b*) *C. tropicalis* (lungs), (*c*) *C. pseudotropicalis* (lungs and digestive tract), (*d*) *C. Guilliermondii* (skin, scalp), (*e*) *C. krusei* (intestinale tract, stooles), (*f*) *C. parakrusei* (skin, nails), (*g*) *Debaryomyces* (sporogenous yeast) nails, interdigital spaces). [1])

H. Lippelt discussed epidemiologic questions concerning blastomycosis. He pointed out that we know about 500 species of blastomyces. Despite this multiplicity of the species the morbidity is very low.

(*c*) *Deep seated or real blastomycoses*

C. Mumme reported a case of a 60 year old man with a fisst size paravertebral tumor in the right thorax. By destruction of the X. and XI. vertabrae the tumor broke into the spinal canal. This caused a blastomycetic meningitis. Death occured nine months after the first symptom appeared. In rats similar tumors could be produced experimentally showing that the spreading of infection followed the hematogenous route.

K. Boehmer's report dealt with a thrush infection of the stomach. Although it is a very rare finding, it has, however, forensic significance, because the changes in the wall of the stomach caused by the thrush fungus could be mistaken for sequelae of poisoning. In the present case there was, indeed, suspicion of poisoning by means of a caustic. The epithelial defects of the tip of the tongue and the mucous membrane of the stomach revealed a mess of mycelia among epithelial cells, bacteria and red blood cells. Even the atrophy of the mucous membrane was present, the most important factor, beside the chemical condition in the stomach, for the infection with the thrush fungus.

Ch. R. Marquardt described a case of blastomycosis of the genital tract. The patient was a white male, a tannery worker of 57 year of age, suspect of pulmonary tuberculosis or syphilis. He had a skin lesion on his right cheek, elevated, with an indurated edge, inflammatory in character, not tender, with an ulcerating base and of one year's duration. He had a similar lesion on the right mesial surface of the left leg, involving the area above the internal malleolus. Repeated smears from the lesions did not reveal blastomyces. Sputum, spinal fluid, blood were also negative. There was a round, solid, tender, regular mass in the right scrotum. There was also an irregular elevated lesion in the rectal mucosa, diagnosed by biopsy as blastomycosis. Later the scrotal swelling softened and ruptured spontaneously. The discharge contained blastomyces.

There have been numerous clinical reports on blastomycosis: T. Venturi: cutaneous blastomycosis with septicemia; M. H. Ebert: blastomycosis of the nasal septum; F. G. Noyv jr.: blastomycotic ulcera of the skin. A. Dosa (1938*a*) investigated a case of *blastomycosis purulenta*, type Busse-Buschke. A 21 year old farmer had numerous, soft, bluish, supporating nodules and nodes in the face, followed later by involvement of the regional lymph nodes. Biopsy revealed blastomyces extracellular and in giant cells. Culture yielded *Cryptococcus hominis*. Autoinoculation of the strain in the patient and experimental inoculation in guinea-pigs were positive.

G. Göhring observed a 70 year old woman with primary deep blastomycosis of the skin of about 2 years' duration. The whole skin was covered with pea to plum size, gumma like nodes, crateriform ulcers, papulo-pustular and acneiform lesions. From closed lesions a yeast could be recovered which showed, however, different pictures in different inoculations. Complement fixation test as well as agglutination were negative, intracutaneous test strong positive. The yeast was pathogenic for white mice, apathogenic for rats and rabbits.

A very doubtful case was reported as „*mycotorulosis generalisata*" by W. L. L. Carol, G. Cremer, H. B. van Haren and J. J. Bloemen. The patient was a 17 year old girl who had been since her first year of life showing grayish-white patches in the oral cavity and on the tongue. In her second year the skin of the right thumb and one year

[1]) Compare with: Iacomina Lodder: Die Anascosporogenen Hefen. N.V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij, Amsterdam, 1934.

later that of the left thumb showed similar disturbances. The third phalanges were involved with the nails. In the following years the condition spread over the forehead, the right and left temples and the nose. A few patches healed up spontaneously. v. PIRQUET test negative. In the „tissue" (where!?) there were gram positive round and segmented bodies at times in chains. In the str. corneum (!!) there were yeastlike elements In all the inoculations from the mucous membranes and from the piece of tissue from the growth at the tip of the nose they found a yeast, *Mycotorula albicans* Langeron and Talice. The results of the inoculations from the skin and the nails were negative. Complement fication test was negative. This case was diagnosed at first as KYRLE's *disease*: *hyperkeratosis follicularis et parafollicularis in cutem penetrans*. As evidences of their diagnosis the authors refer to the fact that they found the same organism in pure culture from the tongue, vagina, vulva which findings have no value as evidences at all, since in normal healthy persons as Japanese authors recently demonstrated yeasts and yeast like bodies can be found easily.

K. BEINTEMA and J. A. FOLPMERS observed another case of *mycotoruleasis generalisata*. („Mycotoruleasis" is wrong, correctly it is „mycotorulosis"). Similar to the case of W. L. L. CAROL and associates the diagnosis seems to be erroneous, because it resembled completely the case BLOCH (Zurich) described in the Ikonogr. dermat. 1932 as „KYRLE's disease". In a five years old child shortly after birth thrush of the oral mucosa developed, followed later by ulcerations and exanthem on the scalp. The nails were affected, too. The diagnosis is simply based on cultures from scales, oral mucosa, nails and some material from pustules.

Such and similar cases can not be acknowledged as caused by yeast or yeast like bodies without the most thorough histological demonstration of the parasite in the depth of the tissues or in absolutely closed lesions. In these and similar cases yeast or yeast-like bodies recovered from superficial scaly material may be nothing else but saprophyte living and thriving in suitable dead material.

J. H. CUDMORE and J. R. LISA reported a real case of this category, a torula meningo-encephalitis. In the patient's history there were epileptiform seizures extending over a four year period and a final acute meningo-encephalitis of seven weeks' duration simulating tuberculosis. The diagnosis of the torula infection was made at the postmortem table. The pathological changes revealed all stages of torula infection and included a cicatrizing brain lesion, a hitherto unrecorded observation.

(*d*) *Bronchomoniliasis*

R. B. DIENST reported a case of a 22 year old negress who showed on examination a tumor about 4 cm in diameter attached to the tenth rib on the right side, just below the angle of the scapula. The tumor was firm and well fixed but not tender. A roentgenogram demonstrated erosion of the tenth rib. The tumor gave the impression of sarcoma. On biopsy, an encapsulated mass 3 cm in diameter was observed, which contained several cubic cm of a gummy, blood stained exudate. Direct smears of the exudate were stained by WRIGHT's stain for blood and it showed a large number of yeastlike cells, particularly in the cytoplasm of the giant cells. Some of these intracellular organisms were budding. Sections of the tissue showed many yeastlike organisms in the granulation tissue, with a few giant cells containing the organisms. The spinal fluid was clear and showed no organisms on direct examination of the centrifugated specimen. The organism isolated was *Cryptococcus histolyticus*. It was avirulent for small laboratory animals. Subcutaneous abscesses could be regularly produced in rabbits.

TH. W. KEIPER (1938*b*) studied yeastlike fungi isolated from pulmonary disease (bronchomoniliasis). Three percent of apparently normal individuals in the group tested harbored monilias in their throats. The incidence of pulmonary disease caused by these organisms in 178 cases was 2.93%. The ability to attack carbohydrates with acid or with acid and gas production is not a reliable criterion for the classification of these fungi. Carbohydrate utilization test according to the method of LAMB and LAMB (1935) showed no variation in two tests two years apart. The test demonstrated that all strains studied were identical and that they fall into the Group I (LAMB and LAMB) and Group 2 (STOVAL and BUBOLZ). This latter group is composed of *Monilia albicans*, *M. psilosis*, and *M.*

candida. Precipitin and agglutinin absorption tests demonstrated that the organisms were serologically identical. It is believed that the reliable results of the carbohydrate utilization tests combined with precipitation and agglutination reactions furnish a dependable method for the classification of these yeastlike organisms.

M. T. Wooley reported on mycological examination of the sputum of 141 patients. 17 patients harbored fungi in their sputum. Specimens were examined from one to ten times, making a total of 373 specimens examined. Yeastlike organisms were most commonly found. *Coccidioides immitis* appeared three times. Two patients had doubl findings, in one *Endomyces* and *M. albicans*; in the other one *Saccharomyces* and *Torula*. A *Sporotrichum* was also isolated. Two patients showed the presence of Aspergilli in tl eir sputa over a period of two years. Fermentation tests, morphologic structure, and animal pathogenicity methods were used in classifying the various type of fungi.

O. F. Farness observed a case of bronchopulmonary moniliasis. The organism recovered from the sputum is classified according to Stoval as *M. albicans*. The clinical diagnosis was „chronic bronchitis and sinusitis". The need of careful sputum studies in every case of chronic pulmonary infection is emphasized. The absence of tbc bacilli and the persistent finding of yeastlike organisms should lead one to a more careful study. The statement of the author: „The finding of nodules showing endothelial proliferation, giant cells and *Monilia* in a rabbit following intravenous inoculation with a culture from suspected sputum is diagnostic", is conspicuously erroneous.

F. Chromoblastomycosis or chromomycosis

Interesting reports are presented by Russian authors.

A. Prokoptchouk found in the Russian literature observations of 14 cases of verrucous, tuberous or nodular forms of this mycosis. The different forms appeared also in combination. Eight rabbits were inoculated either with biopsy material or with emulsion of the fungus. After a few days pustules appeared on the spot of inoculation. In the neighborhood infiltrates and abscesses developed surrounded by capsules, containing masses of spores and mycelia of the fungus *Hormodendron*. Two of three guinea-pigs were infected and only one of three white mice. The retrocultures were positive.

I. Popoff and Z. Antimonowa found a peculiar species of *Hormodendron* in a case of this mycosis. The species showed irregularity of septa in the mycelial threads, mycelial fusion and conidial arrangement in form of oidia. An antigen of the culture yielded a negative intracutaneous reaction as well as negative agglutination and precipitation. Living fungus material, however, caused a positive intracutaneous reaction in the patient.

From the Dominican Republic A. L. Carrión and M. F. Pimentel-Imbert reported the first case of this mycosis in this locality. There was a colored farm hand whose one ankle was afflicted, showing elephantiasis-like swelling along with papillomatous and verrucous growth. The histological section revealed the classical form of the infection: hyperkeratosis and acanthosis, specific granulomatous infiltrates in the corium, consisting of lymphocytes, plasmacells, polynuclear leucocytes, epithelioid and giant cells with marked fibrosis. Parasites were found free in groups in the subcutaneous connective tissue and in giant cells. The parasite was classified as *Hormodendron pedrosoi* Brumpt, 1922.

J. M. Gomes made a thorough investigation of this mycosis. He includes details of the original trauma, the date of the initial lesion, the interval between the penetration of the fungus and the first clinical manifestations, the results of the experimentation with animals and of the laboratory tests and finally, the demonstration of the parasites. He was, however, unable to find special feature which would have allowed a specific classification. It is the third species of *Hormodendron* which has been proved to cause chromoblastomycosis. This fungus, which was pathogenic for men and laboratory animals, was found to be parasitic on *Eucalyptus* trees with twigs of which the patient wounded his hands.

G. Coccidioidomycosis

The burning question in the pathology and epidemiology of coccidioidomycosis was our ignorence about the portal of entry of the infecting fungus. For having brought light into this harassing problem, credit is due E. C. Dickson and Myrnie A. Gifford (1938*b*). Their investigations are the most important among those published on this topic.

The authors give a thorough analysis of the primary type of coccidioides infection (coccidioidomycosis). Acute primary infection with the chlamydospores of *Coccidioides* is of frequent occurrence in the San Joaquin Valley (California, U.S.A.) and usually causes a mild disease from which the great majority of victims recover without apparent complications. In a few cases coccidioidal granuloma subsequently develops when the causative organisms become disseminated by the blood stream. In guinea-pigs and rabbits which are forced to inhale the chlamydospores of the vegetative phase of the growth of the fungus, interstitial pneumonia is produced which tends to clear promptly. In the acute disease there is no immediate formation of tubercles. Roentgenograms of the chest of the infected animals show the same hilar and parenchymatous shadows in the lungs as one finds in human beings, which clear promtly as in the human. The reaction to the inhaled chlamydospores is a temporary irritation of the lymphatic system which does not cause severe tissue damage or the production of granulomatous changes. When the chlamydospores are injected subcutaneously or into the blood stream, on the other hand, the foci of infection which are induced are typically granulomatous, and there are many spherules.

Reproduction of the fungus in the parasitic stage is by endosporulation, and if the spores gain access to the blood stream they may be widely disseminated.

The authors suggest the new term „coccidioidomycosis" which is applicable to all types of infection with coccidioides: (*a*) primary coccidioidomycosis and (*b*) progressive (secondary) coccidioidomycosis or granulomatous coccidioidomycosis (hitherto: coccidioidal granuloma). We accept this new, clear and correct terminology and we recommend it to all authors especially writers of textbooks.

In another contribution E. C. Dickson (1938*a*) deals with the epidemiology of coccidioidomycosis. It has been long suspected that the infection may follow inhalation of the infecting organism. Proof that the inhalation of chlamydospores may cause coccidioides infection was established by an accident in the author's laboratory. A young man who was commencing work with coccidioides fungus inadvertantly opened an old petri dish culture which he proposed to use. When the cover glass of the petri dish was removed he noted a fine cloud arise from the old culture. Nine days later he became ill with a symptom complex [1]) which has been found to be common in the San Joaquin Valley, the region in which approximately 85 % of the human cases of coccidioidal granuloma in the United States have originated. Like the great majority of patients in the San Joaquin Valley, the young man recovered without complications. In a second similar case there was no outbreak of erythema nodosum. In both cases the sputum gave a growth of the fungus *Coccidioides immitis* which was proved virulent by guinea-pig inoculation. It has been found that a symptom complex like that of the first of these two young men is common in the San Joaquin Valley and it is called popularly „valley fever", or „desert fever". Persons of all ages and of either sex may be affected; they are usually ill from three to six weeks, and the most of them recover without having had any complications. A report between January 1st, 1936 and May 1937 showed 354 patients with valley fever or erythema nodosum of whom 353 had recovered without complications and one had died of coccidioidal meningitis. General symptoms are headache, diffuse muscular pains, severe pains about the chest, pleurisy, gastrointestinal disturbances, sore throat, conjunctivitis with bulbar hyperemia, rapid loss of weight. Fever is no higher than 100 Fahrenheit (about 37.4 C) but in cases of severe bronchitis or bronchopneumonia, it may be 104 to 105 Fahrenheit (about 39.6 to 40.2 C). *Erythema nodosum* is typical on the shins, but when the eruption occurs elsewhere it is sometimes described as *erythema multiforme*. There are recurring attacks of *erythema nodosum* during a single sickness. A roentgen diagnosis of tuberculosis is often made on the first examination.

[1]) The disease often beginns acutely with fever, pains in the thorax and pleura and with symptoms of bronchopneumonia.

72 of 112 specimens of sputum which were examined from the San Joaquin Valley have proved positive for *Coccidioides* infection. Leucocytosis up to 15.000 and eosinophilia up to 4% are not rare.

The use of the coccidioidin cutaneous test in cases of valley fever has been most helpful in correlating the diagnosis with *Coccidioides* infection. The author found that 0.1 cc of 1 : 1000 dilution of coccidioidin is adequate producing well marked reactions sometimes with vesicle formation in cases of primary infection. At least 0.1 cc of a 1 : 10 dilution of this coccidioidin is necessary for the test in coccidioidal granuloma.

It is definitely established that infection with *Coccidioides* fungus is caused by the chlamydospores of the vegetative phase of the fungus. Primary *Coccidioides* infection will be acquired by inhalation of the chlamydospores, and the development of the primary lesions is in the lungs or in the regional lymph glands. The development of the later coccidioidal granuloma is undoubtedly secondary and is caused by the fungus spreading presumably by the blood stream from primary foci.

The infection with *Coccidioides immitis* may be manifested in at least two ways: (1) by a primary acute infection of the respiratory tract, often accompanied by *erythema nodosum*, from which the great majority of the patients recover without complications, and (2) by a later more or less chronic granulomatous disease, known as coccidioidal granuloma, which may be disabling and which has a case mortality rate of approximately 50%. It is therefore necessary to have a name for *Coccidioides* infection to include both types of illness, that is: *coccidioidomycosis.*

A. R. Lack made important investigations on the spherule formation and endosporulation of the fungus *Coccidioides* in vitro. *Coccidioides immitis* Stiles forms spherules (sporangium) in the animal body (coccidioidal granuloma). MacNeal and Taylor were first to succeed in obtaining a growth of these spherules outside of the animal body by inoculating pus containing spherules into tubes of ascitic fluid and gelatinized horse serum to which sterile tissue had been added. They were cultured anaerobically. They observed that parasitic forms, i.e. spherules, continue to multiply for a time by endogenous sporulation. The authors repeating the experiment in somewhat different form succeeded in producing endosporulation. A semi-anaerobic constricted tube of the Hall type was used and filled with filtered glucose broth having a pH of 7.2 and heated to 100 C for 15 minutes. After cooling off the inoculum was prepared by suspending in fresh egg albumin a preparation of chlamydospores from an 8 weeks old culture. The inoculum was pipetted into the bottom of the constricted tubes and immediately a sterile marble large enough to close off the constricted neck was dropped in place. By gentle warming partial coagulation of the egg albumin within the lower chamber was obtained, the heat being insufficient either to kill the organism or completely coagulate the egg albumine. Four control tubes were prepared. The tubes were then incubated at 37°C. Samples were taken every 24 hours. By 48 hrs. round bodies were seen 20 to 30 μ in diameter, finely granular in structure and possessing a greenish, granular capsule: the „granular type" of the spherule. In the same cultures larger round organisms were also found, 30 to 40 μ in diameter, granular in structure and possessing a thick yellowish-green capsule from which numerous large spicules radiated peripherally. After seven days the tubes showed many greenish, granular spherules. There were a few clear (vacuolated) spherules possessing wide, refractile, double-contoured capsules which are yellowish-green in color. A large spherule of approximately 50 μ in diameter with a greenish capsule of medium width was also seen. Within this organism there were round or irregularly shaped bodies about 6 to 10 μ in diam. They were endospores. All the controls showed only mycelium formation without endosporulation. Thus the author has succeeded in reproducing the parasitic cycle of the coccidioides immitis in vitro.

Ervin Epstein contributed to the knowledge of the prognostic significance of cutaneous lesions in coccidioidomycosis. There are differences concerning prognosis between the acute and chronic type of coccidioidomycosis. Acute coccidioidomycosis of the skin is most commonly observed on the face, than on the scalp, the neck, the upper portion of the back and shoulders and the upper extremities. The mucous membranes of the lips and nose may also be affected. The lesions usually start as small superficial pustules which are soon replaced by papillomatous nodules. The apex of such a lesion is the narrowest portion, the base the widest part and may project as much as 2.5 cm above the level of the skin. The color varies from gray to red to purple. The papillomas are

friable, and pressure causes the expulsion of purulent material containing *Coccidioides immitis*. The appearance of these lesions is usually preceded by symptoms of pulmonary or meningeal involvement. The patients succumb to a generalized coccidioidal infection in from 6 to 12 weeks after the appearance of the eruption.

The dermatological manifestations of chronic coccidioidomycosis can be differentiated from those of the acute type. In the former the lesions are deep abscesses which involve the skin secondarely. The commonest localization are over the sternoclavicular joint, on the lateral aspect af the foot, cervical and inguinal region.

The author has seen five patients with the acute type of coccidioidomycosis. Three had multiple and two had single lesions. The face was involved in three patients, and the upper extremities or the shoulders in a like number. Among 18 patients with coccidioidomycosis who left the hospital alive, this type of cutaneous complication was not noted on a single instance. The patient with fatal pulmonary involvement presented only a subcutaneous fluctuant abscess on the dorsum of the left foot. In two cases *Coccioides immitis* was successfully grown in blood cultures. One patient had endocarditis and *Coccidioides immitis* was demonstrated histologically in the valves. It is assumed that the sudden appearance of multiple lesions, and the positive blood cultures support the concept of hematogenous dissemination of *C. immitis*.

R. A. Stewart and K. F. Meyer studied the metabolism of *Coccidioides immitis* Stiles. They tried to find a synthetic medium with selective properties for this fungus suitable for the investigation of soil and vegetation supposedly the original habitat of this fungus. In a preliminary experiment 17 cultures were examined with respect to their general characteristics. The morphology of all cultures was similar, all presented septate mycelium and, in culture, they produced no other type of spores except the arthrospores and chlamydospores. 17 strains were implanted upon the usual meat extract agar and allowed to remain without attention for seven years. One of the strains was implanted on a strip of cactus at the same time. Seven of the strains grew luxuriantly again when a few cubic cm of glucose-pepton-broth were added to the original test tubes containing the dried medium and the hard dried cactus strip.

The simplest compounds furnishing excellent growth of *Coccidioides* and *Blastomyces* when added to the basic medium were 1 part ammonium chloride and 1 part sodium acetate. The „basic medium" contains a mixture of KH_2PO_4 and K_2HPO_4 each 0.4 part, $MgSO_4$ 0.01 part and distilled water 100 parts, pH 6.2 to 6.4. This medium was used in the isolation of *Coccidioides immitis* from the soil. The medium has selective properties but is in no sense specific for *Coccidioides*. When clinical material is used, the inoculum should be concentrated by some procedure because the addition of extraneous carbon and nitrogen sources lessens the selective value of the medium by permitting other organisms to outgrow *Coccidioides*.

The resistence of *Coccidioides* to dessiccation may be an important factor in the dissemination of the parasite in the dry warm climate of the San Joaquin Valley. Under the conditions of drying the chlamydospores are formed and it is apparently not possible to infect animals in the absence of spores. The metabolism of *Coccidioides immitis* and *Blastomyces dermatitidis* did not present any significant differences in either a proteinrich medium or in a synthetic one. Contrary to the publications in the literature glucose is assimilated by both *Coccidioides immitis* and *Blastomyces dermatitidis*. The metabolism of these fungi differs from the metabolism of bacteria and certain protozoa in that the consumption of glucose does not suppress the production of ammonia.

Concerning the epidemiology of coccidioidomycosis an important contribution was made by C. L. Davis, Geo. W. Stiles and A. N. McGregor. The „California disease" (coccidioidomycosis) was observed in cattle ranging in age from one to six years and the lesions were confined to the thoracic lymph nodes. The authors reported for the first time (1937) the occurrence of pulmonary coccidioidal granuloma in adult cattle. Since pulmonary lesions were first demonstrated in cattle six year of age, it was assumed that the primary infection occurred at a somewhat earlier age in the thoracic lymph nodes and that the probability of the disease spreading from lymph glands to other tissues would increase if affected animals were not slaughtered at an early age. Now they have to alter their viewpoint since they observed that 23 out of 48 calves eight to ten months old exhibited lesions in the thoracic glands suspected of being coccidioidal granuloma. Seven of the animals showed slight granulomatous lesions in the lungs in addition to the lymph gland involvement.

There are also a few interesting case reports on coccidioidomycosis. HARRY P. JACOBSON (1938*b*) observed this disease in a 24 year old Filipino with a cutaneous and a generalized infection. The skin eruption consisted in ulcerous nodes, fistulas, abscesses and soft tumorlike granulations. A septic condition persisted for a long while. Treatment with specific vaccine and codliver oil resulted in a cure.

H. E. MILLER diagnosed the disease in a 40 year old man showing the unusual picture of brownish induration and erythema of the nose, upper lip and the cheeks. The affection began three years previously. Treatment with Ca-creosotate was without success. X-ray caused improvement. Since 1937 the patient has been treated with intracutaneous and subcutaneous injections of specific vaccine. X-ray picture of the lungs in 1938 showed no signs remaining of the process.

MORRIS MOORE (1938*a*) gave a historical survey of clinical cases and a comparative study of blastomycosis, coccidioidomycosis, and paracoccidioidal granuloma. The author dealt especially with the South American condition. This paper is best summarized as a brief description of the clinical aspects of the blastomycoses and of coccidioidomycosis occuring in Europe, North America, and South America. He gives a thorough description of the several fungi in tissue or pus and in culture, macroscopically and microscopically and an epitome of the respective biologic phenomena.

H. Paracoccidioidal granuloma

On Brazilean blastomycosis: paracoccidiodal granuloma we have information from two experienced investigators in this field: FL. DE ALMEIDA and L. DA CUNHA MOTTA.

DE ALMEIDA discusses the *granuloma paracoccidioidicum* and its buccal localization. The portal of entry of Brazilean blastomycosis is almost exclusively the mouth with two typical locations: first the tonsils and the cervical lymph glands with swelling and suppuration. In sequence the lymph nodes of the axillae and groins are involved and finally the spleen and the liver. The other typical location is the commissure of the lips. The affection makes further progress either in the direction of the tongue and the gums or it affects the tissues around the nose. As to the causative agent of the Brazilean blastomycosis the *Paracoccidioides cerebriformis* was found in the State of Rio and the *P. brasiliensis* in the State of Sao Paulo. Farmers are usually afflicted.

DA CUNHA MOTTA called special attention to the destructive properties of the fungus *Paracoccidioides* followed usually by secondary infection of the lymph vessels and the lymph glands with subsequent suppuration. The infection of the tonsils and the mucous membrane of the mouth is quickly followed by secondary infection and invasion of the diseased tissues by the common germs of the oral cavity. The subsequent suppuration very often conceals the primary granulomatous process. If and when the process invades the deeper tissues the suppuration becomes subdued and the chronic granulomatous reaction of the tissues with histiocytes, giant-, lymph-, and plasma cells becomes quite conspicuous.

DOMINGO MOSTO reports on pathological changes of parenchymatous organs caused by *P. brasiliensis*.

I. Sporotrichosis

There are very few reports concerning this mycosis. RIBEIRO W. SCHULTZ made a therapeutic attempt with prontosil in the case of a 10 year old negro boy, because he could not stand the high doses of potassium iodide. He gave intramuscular injections of prontosil starting with 5 cc, later giving 10 cc every other day. The gummatous and ulcerative process on the arms healed up completely after 14 injections.

E. W. NETHERTON and G. H. CURTIS observed the disseminated subcutaneous type of this disease in a 54 year old man. The case was characterised by cutaneous-subcutaneous partly ulcerated nodules and nodes disseminated all over the body. The lesions consisted in typical granulomatous tissue. Pus from closed lesion yielded *Sporotrichum*.

ALVARADO, E. R. GAVINA, TOMÁS NEGRI and D. MOSTO investigated a case of ulcerative sporotrichosis of the legs in a 50 years old Spanish woman. The causative agent

was *Rhinocladium Beurmanni*. VIDAL-ABRAMI test positive. They could not substantiate GOUGEROT's rule concerning the histological structure of the sporotrichotic gumma: center purulent, periphery syphiloid, tuberculoid infiltration between them. They found instead an indistinct transition between these histological structures.

J. Actinomycosis

The interest in actinomycosis is extremely lively concerning both human and animal infection and a great deal of excellent work has been done.

(*a*) *Mycology*

P. NEGRONI (1938*a*) reports the first case in Argentina of an osteomyelitis of the maxilla caused by *Actinomyces discofoliatus* Grüter, 1932. He gives a thorough description of the fungus both microscopically and culturally. P. NEGRONI and H. BONFIGLIOLI deal in an extensive study with *Actinomyces Israëli* (Kruse, 1896). In the cranial, pulmonary as well as in the abdominal form of actinomycosis a fungus was frequently isolated in Buenos Aires which was identified on the basis of its morphological characteristics belonging to the species „*Israëli*".

For the storage of *Actinomyces necrophorus* cultures E. A. TUNNICLIFF has discovered an improved nutrient medium.

A new species of *Actinomyces* was reported by C. C. BASU, obtained by means of blood culture. It was found on the 9th day in a case of bronchopneumonia with high fever. The new species, after a thorough analysis, was named *A. sanguinis*. ERIKSON of the London School of Tropical Medicine and Hygiene substantiated the diagnosis.

J. ØRSKOV made investigations on the ray fungus cultivated from the soil in Denmark. The author refers to an older publication of the year 1923 attempting a classification of *Actinomyces* on the basis of constant morphological characteristics. He dealt in this paper mainly with *Actinomyces* obtained by culture from human pathologic sources. ØRSKOV divided these fungi in three groups. Group I comprised the sporogenous species. The spores produce a one-cell-mycelium without any transverse septa. This primary mycelium produces aerial hyphae which divide finally by means of constriction of the wall of the aerial hyphae in equally large portions: arthrospores. There was only one strain in this group without formation of aerial hyphae, but even in this strain the primary mycelium showed development from the spores similar to the aerial hyphae in the other species of this group. Group II is divided into two sub-groups. Group II*a* formed a primary mycelium without septa and produced aerial hyphae appearing very early in the culture. Later both the primary mycelium and the hyphae developed true septa. The segments, however, did not show a greater resistence than the unsegmented mycelium. The species of this group are very polymorph. Group II*b* differs from the other groups in not forming aerial mycelium. The growth starts forming an unseptated primary mycelium which later becomes segmented. Certain species of this group showed a tendency to change to another type of growth, i.e. to grow in an angular shape, well known in the coryneform bacteria. Group III contains species developing an unsegmented mycelium with single-spore formation at the end of the hyphae. This group was found by H. L. JENSEN in numerous specimens in the soil. The author proved the great distribution of ray fungi of Groups I. and II. in Danish soil. The morphological classification, now in use, proved its practical value also in this material. In substantiation of the findings of H. L. JENSEN fungi of Group II were very frequently found. Among strains with large, small and angular mycelia there were many with great motility. Biochemical reactions were used in differentiation showing the possibility of a more thorough classification of these fungi in the future.

FR. A. LENTZE (1938*c*) found in the pus of a case representing clinically true actinomycosis two partially anaerobic strains of *Actinomyces* with cultural, serological and biochemical differences. One was identical with the species WOLFF-ISRAËL, the second behaved itself in the superficial colony like a *Corynebacterium*. This observation accounts for many confusions in the literature, dealing with *Actinomyces Wolff-Israëli* or *Streptothrix Israëli*. Both strains show far reaching differences in their antigenic structures. It is possible

that the *Actinomyces Wolff-Israëli* transmutes into the second type. Such a mutation was observed in vitro in a passage experiment carried out for five months. Even if the *Corynebacterium*-like *Actinomyces* were a mutant of the classic type of *Actinomyces Wolff-Israëli* the author considers unjustified a nomenclatorial change to *Corynebacterium Israëli*.

(*b*) *Biology*

M. Welsch studied the mechanism of the *mycolysis* of living germs in connection with *Actinomyces*. Addition of a small amount of broth inhibits the growth and lytic activity of *Actinomyces* in a mixture of microorganisms. Addition of actinomycetin promotes the lytic effect. The young mycelium is always more active than the old one. The dissolution of living and inactivated germs by *Actinomyces* depends on its bacteriolysins. In order to dissolve inactivated living germs actinomyces itself must be present. Young mycelia are efficient for this purpose, older ones are uncertain in their effect. He further reported about *nephelometric dosage* of the bacteriolytic principle of *Actinomyces*. For this purpose extensive mathematical calculations are carried through. In a similar sense mathematical computations are made to determine the inactivation by heat of the bacteriolytic principle of the *Actinomyces*.

R. K. Goyal carried out serological studies on *Actinomyces*. As antigen the methyl alcoholic extract of unemulsionable strains of *Actinomyces* was found appropriate for the complement fixation test. Due to the presence of an antigen, *Actinomyces* is to be classified in the bacteriological taxonomy among the Schizomycetes, and not among the Hyphomycetes. Although in certain strains of acid-fast bacteria a specific antigen was present, nevertheless, an antigen common to *Actinomyces*, *Corynebacterium* and *Mycobacterium* could be clearly demonstrated. Bacilli microbiologically far from the tubercle bacillus did not show any higher titer of antigen contained in the *Actinomyces*-tubercle bacillus group. Mammal tubercle bacilli and *Actinomyces* possess only group antigens, while special antigens are lacking in the methyl alcoholic extract.

W. Schmidt-Lange and H. Bucherer investigated the *chitinolysis* of pathogenic *Actinomyces*. On an agar medium prepared with the chitin of crab shells only Actinomycetes showed growth among all the pathogenic germs investigated so far, revealing the characteristic phenomenon of chitinolysis.

C. E. Skinner studied the *„tyrosinase reaction"* of *Actinomyces*. Almost one third of the strains isolated caused a dark brown to black discoloration on beef pepton agar: the tyrosinase reaction. The same „chromogen" strains produced a dark pigment in a synthetic medium to which tyrosine was added, and in gelatine medium constantly gave the Millon reaction for tyrosine. Synthetic media without tyrosine never showed any discoloration. Some strains of *Actinomyces* produced in media not containing tyrosine a brown pigment only after seven days, which is not identical with the pigment produced by chromogenic Actinomycetes on tyrosine nutrient media within a few days. The latter is much less soluble in water and in alcohol than the former and is not soluble in chloroform. In nutrient media containing free tyrosine some strains of *Actinomyces* produced a red pigment frequently turning slowly to dark brown. It is assumed that these strains do not produce the enzyme necessary for the hydrolysis of pepton to tyrosine.

Interesting cytological studies were carried on in *Actinomyces Israëli* by P. Negroni (1938*b*). He demonstrated the existence of vacuoles and glycogen with the same characteristics as observed in similar elements of Eumycetes. The existence of fat corpuscles or chondriome could not be detected; but, on the other hand, he observed in the larger filaments, treated by the nuclear staining methods, the presence of special formations comparable with the nucleus of Eumycetes, which have a regular distribution, an excentric and intensively stained corpuscle, like the nucleolus of Eumycetes, a clear halo (caryolymph) and sometimes a faint membrane. Very often one of these corpuscles is attached to the extremity of the filament and occasionally he saw two of them united by a chromatic bridge resembling direct nuclear division.

In the field of

(*c*) *Diagnosis*

active discussion is carried on concerning the clinical value of positive findings of *Actinomyces*.

H. Schuermann found an anaerobic *Actinomyces* in the lesion of a case with acneiform exanthem on the face which was considered as a disseminated atypical actinomycosis of the skin. In order to clarify the value of this finding further investigations were made on pustular and acneiform skin conditions (*acne vulgaris*, *acne conglobata*, *lupus miliaris disseminatus* and so on) yielding similar positive findings. These results allow a twofold interpretation. It can be assumed that the *Actinomyces* found do not play any rôle in the pathogenesis of the skin conditions investigated. This assumption would lower if not nullify the value of a positive bacteriological finding of *Actinomyces*. It can be supposed, on the other hand, that atypical skin conditions caused by *Actinomyces* are much more frequent than we presume today.

Of great interest is an investigation of Fr. A. Lentze concerning the microbiologic diagnosis of actinomycosis. In 55 cases of true actinomycosis 80 per cent showed *Actinomyces* granules. The lack of granules thus does not exclude true actinomycosis. Instead of using a KOH preparation to detect the granules, he found it better to suspend the pus in a drop of methylene blue. The picture is very characteristic: within a wall of dark blue stained leucocytes there is a cauliflower shaped structure with bluish-green stained club-shaped border, resolved by higher magnification into a mess of threads. With Gram stain Gram-positive fragments like bacilli can be seen, while *Leptothrix* conglomerates reveal Gram-negative threads. Gram staining is important for differential diagnosis to eliminate the *Actinobacillus Lignièresi*, a Gram-negative rod closely related to the *Coli*-group, causing a form of „actinomycosis" in cattle and swine. For the culture aerobic and anaerobic nutrient media are recommended: one agar plate and one fresh blood agar plate for an aerobic culture to be observed at least for 14 days, further a cooked blood agar plate, pH 7,2, and one cooked blood agar plate, pH 7,4 anaerobic according to the technic of Fortner. With this technic it is possible to demonstrate *Actinomyces* culturally in three quarters of the cases within 48 hours and in the rest after the fourth day of incubation.

M. Wassmund (1938*a*) sought to determine whether the simple presence of thread bacteria or granules justifies the assumption of a clinically true actinomycosis or leptothrichosis? He holds that the bacteriological evidence of *Actinomyces* or *Leptothrix* by means of the anaerobic cultural method is more reliable than the histological evidence of granules. The bacteriological evidence is always successful, while the histological often fails. Since *Leptothrix* usually does not form granules in the granulation tissue, a histologic section promisses no success in this condition. True actinomycosis or leptothrichosis are not always present when and where thread bacteria or their granules are found in a pus infection. In 34 cases of actinomycosis with an avirulent mixt infection and in seven cases of leptothrichosis there were only 23 cases of true actinomycosis running a chronic course which justified specific treatment. In cases with positive evidence of actinomyces there is a true actinomycosis present in only 40 per cent, in comparison with 60 per cent of an avirulent mixt infection, a pseudo-actinomycosis. The avirulent mixt infection with *Actinomyces* and *Leptothrix* was found in 21 external abscesses, 6 mandibular fractures with external abscesses, 11 cases of osteomyelitis of the mandible and in three cases of resection of the mandible due to carcinoma. The pus was always taken only from the external wounds. The diagnosis of an actinomycosis or leptothrichosis or a mixt infection of both, an actino-leptothrichosis is only justified when beside the positive evidence of thread bacteria the clinical course allows the assumption of a chronic specific inflammation.

A further important contribution was presented by J. F. Kessel and E. B. Goolden which throws light on the delicate question of the diagnosis and stresses the difficulties in the critical evaluation of bacteriological findings in actinomycosis. They compared strains of *Actinomyces* from human lesions. The exudate was studied in 11 cases by means of the direct smear and by staining. Organized granules occurred in the exudate of nine of the cases, „clubs" being present only in three of the nine. Exudate from two of the cases showed branching filaments only, without organization into granules. Cultures were obtained in seven cases, four being isolated under a micro-aerofilic environment, the others in aerobic cultures. Among the latter one was undoubtedly *Actinomyces asteroides*, two were probably *A. hominis*, and the remaining two showed certain characteristics either of *A. asteroides*, *A. hominis*, or of *A. bovis*.

(*d*) *Clinical reports*

The case reports in this mycotic disease are numerous and show a great diversity. Some of them call our attention to rare localizations of the condition.

W. Cl. Anderson and H. R. Jenkins described a case of actinomycosis of the scrotum in a 48 year old man. The histological section revealed granules in the granulation tissue.

M. Masini found the mortality of abdominal actinomycosis to be 60 to 70 per cent. In his case the coecum and the appendix were infected and removed, but in spite of this the infection progressed to the abdominal wall and to the left thigh. Through administration of large doses of iodine for two years the patient recovered.

W. Baumgärtner discussed some practical questions in actinomycosis. He found that 80 per cent of the patients were farm people handling corn. This fact would suggest an exogenous infection. The most frequent portal of entrance of the fungus is the mouth. He refers to statistics of Keyser who found in 68 per cent the cervico-facial localization, in 27 per cent the abdominal form, and but 5 per cent the thoracic or other rare involvement. The thoracic infection gives the worst prognosis.

A. G. Gibson, R .H. Rose-Innes and J. Gibson observed acholuric jaundice in two sisters. The spleens were extirpated, and one yielded *Actinomyces caprae*.

The rare meningeal localization is reported by several investigators. A. Kovács observed a 42 year old white female patient who had severe facial pain following the extraction of the upper left molar. A few days later nervous symptoms appeared, followed by meningeal irritation and after 10 weeks death occurred. At the autopsy the pia mater from the chiasma onto the spinal cord was covered with a yellowish-green, plastic exudate. The ventricles contained a turbid fluid, with numerous granules. A further report of an actinomycitic meningitis with the primary focus in the finger was presented by D. B. Morrison, A. A. Humphrey and J. E. Bailey. A survey revealed only 110 cases of this kind in the literature, with starting points in sinuses of the upper respiratory tract and in the bones of the skull. This case is exceptional due to the primary focus in the finger with a wall nut size swelling at the elbow from which *Actinomyces* granules could be recovered. The meningitis showed all the typical symptoms, but the bacteriologic examination of the spinal fluid was, entirely negative, during life. At the autopsy a basal meningitis was demonstrated with creamy pus containing granules.

F. Baudach discussed the differentiation of actinomycosis of the lungs from lung tuberculosis. He stressed the point that a sure diagnosis of actinomycosis of the lungs can not be given by means of bacteriologic or of biologic methods. A simultaneous tuberculosis of the lungs as in the case presented might still more complicate the situtation. Beside cough and dispnea, neuralgic pain in connection with swelling of the thorax is strongly suggestive of actinomycosis of the lungs. In general the X-ray picture reveals neither a typical progression nor typical shadows.

M. Ferrando and A. Ceruti observed the cervico-facial localization of the disease in a 39 year old man. Pus from several fistulas on the left side of the neck showed no granules but the culture yielded *Actinomyces bovis*. G. Sgalitzer described a case of the ray fungus infection of the abdominal wall following an appendectomy.

M. Wassmund (1938*c*) reported the occurrence of actinomycosis in childhood. In three children 13 years of age the disease was observed following the eruption of the second molar. The process started in the bone of the mandible and it was first localized in the germ of the third molar. It took several months before an abscess developed in the soft tissue, therefore, suspicion was entertained at first of neoplasm. Cure was successful by osteotomy and iodine-iontophoresis. X-ray treatment of the juvenile bones is objectionable, because dangerous to their development. The infection was a mixt one, pyogenic germs with *Actinomyces* and *Leptothrix*.

Breitländer observed a case of abdominal-pelvic actinomycosis which was cured by X-ray treatment. Two years later an adenocarcinoma corporis uteri developed. Masao Tomita and Gen. Yamanouchi enriched the case reports with their observation of a gluteoperineal actinomycosis. A. L. Carrión (1938*a*) investigated two cases of generalized ray fungus infection in Puerto Rico. In one case the biopsy revealed the usual histopathologic picture with typical granules in the section, while in the second observation there were no granules in the tissue, but they were present in the exudate. The autopsy

revealed in the first case a primary pulmonary lesion, while the second one was remarkable for the extreme dissemination of mycotic foci throughout the viscera.

The destruction of the foot by different fungi: *Actinomyces*, *Discomyces*, molds, i.e. *mycetoma pedis* is very rare in Europe. True actinomycosis of the foot is even more exceptional. A. Dósa (1938*b*) had the rare opportunity to make a thorough investigation in such a case. A 57 year old farm woman hurt her right foot 20 years before with a dung fork. Within the first year after the accident she developed a hazelnut size, hardly painful node which remained almost unchanged the following 17 years. The node broke open very soon and stayed open without undergoing any change. The foot was swollen, board-like, deformed. The fungus was determined as *Nocardia bovis*. A guinea-pig infected with a suspension of this fungus intraperitoneally died on the 26th day. The retroculture showed the microorganism in different organs, an interesting fact, because the guinea-pig or rabbit have not succumbed to infection with *Nocardia bovis* in experiments made hitherto.

In many respects a similar case, a *mycetoma of the knee joint* was observed by V. Manca Pastorino. Outstanding was the duration of the condition over 12 years in a 37 year old female patient. The knee was swollen, infiltrated, suppurating from many fistulas. In the secretion a great number of yellow granules were discharged with the characteristics of *Actinomyces*. The lesions revealed an exceptionally great number of granules, lipoids and lipochromes. The fungus mass showed a selectivity for fat dyes (scarlat R, Nile blue) superior to any other stains tried to the present time for the difficult staining of the granules. Out of one hundred test tube cultures from pus and circulating blood (aerobic and anaerobic) only one single tube culture was obtained. Two different species were detected (1) one from the blood: *Actinomyces melanosporeus* Krainschy and (2) *Proactinomyces asteroides* from the pus. That is the first time that *A. melanosporeus* has been recovered from the circulating blood and found to be pathogenic in humans.

(*e*) *Therapy*

In the treatment of the different forms of actinomycosis beside X-ray treatment (K. J. Glikina, R. Garzon, R. Geiseler, W. Baumgärtner), and chemicals such as the intravenous administration of sodium iodide (J. Farquharson), the oral administration of thymol (H. C. Fang), and of sulfanilamide (O. Walker), the modern and successful vaccine therapy occupies a large space in the reports.

P. Negroni (1938*c*) treated 36 cases of actinomycosis out of 50 with vaccine. Among these 36 twenty showed a definite healing over 5 years of control, six were partly improved, six remained unchanged and in four cases no result could be established.

E. Neuber, outstanding authority in the vaccinotherapy of the ray fungus disease has been occupied for a number of years with therapeutic experiments on the curability of actinomycosis by means of combined gold- and vaccinotherapy. On the whole, 62 patients were treated in this way. The results were very satisfactory and successful in patients who possessed some resistence or who could be made resistent by roborating diet and chemotherapy (gold). Cases with anergy are entirely hopeless. Allergic reactions following a subcutaneous injection of specific antigen are significant and important especially concerning the diagnosis of actinomycosis of internal organs. Patients showing anergy have to be made allergic before starting with the vaccinotherapy. The proper choice of the correct dose of the vaccine, especially of the first dose, is important. As first dose that quantity is best which just causes an allergic reaction in the sick but no reaction at all in healthy control persons. During the course 10 to 15 injections were administered, mostly at 5 to 7 days intervals. Each dose was larger than the previous one, eliciting with each injection an obvious but not severe local, focal and general reaction. Severe focal reactions in organs important to life may cause such a degree of tissue destruction as to end in death. The greatest success is secured by autogenous vaccine, the next best is the polyvalent vaccine. If the first course of gold plus vaccine was not enough the treatment must be repeated after 8 to 12 weeks. In a case of periproctal actinomycosis which died of an intercurrent disease a month after the course of gold plus vaccine was finished, the total healing of the process could be established even histologically. In some cases Neuber used convalescent serum with success. A severe case, for instance, healed after the administration of but two injections with excellent cosmetic effect.

Few references were found in the literature contributing to our knowledge of *Mycetoma* in countries *outside the tropics.*

E. B. Hanan and Sophia Zuretт observed the fourth reported instance of *mycetoma pedis* in North America, attributed to the Genus *Madurella*, Brumpt, 1905. The causative organism was a new species *Madurella lackawanna*, 1936, n. spec. Thorough analysis of the fungus is given. Cultural characteristics of the new species seems to warrant the conclusion that liver tissue possibly contains some substance essential to the successful growth of different species of the genus *Madurella.*

T. de Verebély reported two cases of „Madura foot" observed in Hungary with the culture of *Indiella Mansoni.* He suggests the change of the term „Madura foot" to *hyphomycosis pedis*, a term which in our opinion is not an improvement, not being derived from the name of the causative agent. It is, therefore, not desirable to replace an older term understandable at the first sight by everybody. The introduction of new and meaningless terms is moreover superfluous because we have several well known and accepted terms: *mycetoma pedis*, *maduromycosis.* He gives a classification of the various organisms causing maduromycosis. I. Trichomycetes: *Actinomyces*, Harz-Bollinger; *Streptothrix*, Vincent. II. Mucedineae: (1) *Indiella*, (*a*) *Mansoni*, (*b*) *Regnièri*, (*c*) *somalensis*; (2) *Madurella mycetomi*, Laveran. III. Ascomycetaceae: (1) *Aspergillus*, Bouffard, (2) *Sterigmatocystis nidulans*, Nicolle-Pinoy.

Very few are the reports on true *Streptothrichosis.*

M. Petzetakis reports on this disease in Greece. He examined three cases: one showed cavities simulating tuberculosis of the lungs; the second one revealed broncho-pulmonal characteristics; the third one was a purely glandular form without any participation of inner organs. In all these cases an anaerobic species of *Streptothrix* was obtained. Potassium iodide cured the first and improved the two other cases. Animal experiments were also carried out in studying the mechanism of the infection by this fungus.

K. Experimental biology and immunology

D. S. Martin investigated the antigenic similarity of a fungus *Cadophora americana*, isolated from wood pulp, to *Phialophora verrucosa*, isolated from patients with *dermatitis verrucosa.* Both fungi were morphologically similar and their antigenic property were found nearly identical. Six other species of *Cadophora* from wood pulp differring from *Phialophora verrucosa* were also different in their antigenic properties, relative to the species *Phialophora* cultured from the pathologic lesion. The complement fixation test is of value in differentiating species which are pathogenic for humans and also occurs in their saprophytic life in nature.

S. A. Glauberson and E .S. Blindman carried out investigations on serologic reactions in dermatomycoses. In 8 cases of *favus* and in 21 cases of *tinea trichophytina* the complement fixation test, agglutination and precipitation tests were done. The antigen for the complement fixation test was prepared from *A. Schoenleini* and *Tr. gypseum.* For agglutination and precipitation tests the same antigens or one prepared from mixt cultures was used. The complement fixation test was almost constantly positive. It was strong positive in deep infections of tinea trichophytina and in cases of *favus* of longer duration. Agglutination and precipitation tests yielded positive reactions but only at low dilutions of the sera examined. As control eleven sera of patients with tuberculosis of the skin and 30 syphilitic sera were examined. A few showed unspecific reactions. The autors attribute great practical value to the serological tests in dermatomycoses and recommend further investigations.

Tadeusz Chorażak adn Edmund Mikulaszek carried out skin tests and complement fixation test in dermatomycoses. They found, as did the preceding authors, in the greater number of deep *tinea trichophytina* a positive complement fixation test, while a

positive test was exceptional in superficial tinea. Positive tests occuring in superficial *tinea trichophytina*, mycotic eczema, *favus* and above all in staphylogenic sycosis invalidate their specificity. The control cases, tbc of the skin, showed positive complement fixation tests. The cutaneous reaction with trichophytin was in these cases clearly positive. They attribute no great practical value to the complement fixation test even in deep *tinea trichophytina*, except in those cases in which fungi can be found neither microscopically nor culturally. The observation of JAUSION concerning relations between *Lichen ruber planus* and *tinea trichophytina* caused the authors to carry out the complement fixation test and cutaneous test with trichophytin in patients with *lichen planus*, and *lichen chronicus* VIDAL. 5 cases out of 22 of *Lichen planus* showed a slightly positive complement fixation test, while 20 cases demonstrated a positive trichophytin test. In 3 cases of 11 of lichen VIDAL the complement fixation test was positive, the cutaneous test with trichophytin was positive however, in six cases.

ATTILIO VERSARI examined by means of a manometric method the aerobic and anaerobic metabolism of *A. Schoenleini*. He found the amplitude of the breathing (QO_2—QCO_2) receding rather sharply in cultures as they grew old. The anaerobic glycolysis is small, the aerobic still smaller. The fermentation of the different hexoses goes on almost at the same rate, while pentoses hardly are attacked. From the disaccharides maltose only undergoes a little fermentation, the other do not change. Maltase is present, saccharase and lactase are lacking. Trisaccharides (raffinose) are not attacked, either. The metabolism of *A. Schoenleini* is very similar to that of the Trichophyta, it is aerobic and it shows a slight acid formation.

L. GRIGORAKI and R. DAVID (1938*a*) dealt also with the biochemical characteristics of the ringworm fungi. In the opinion of the authors the mycologic criteria, formation of conidia, spindle spores and arthrospores are not sufficient to differentiate the dermatophytes from each other, especially in nearly related species. They tried to find some helpful biochemical characteristics, investigating first the relation of *Tr. crateriforme* to *Achorion violaceum*. It was shown that *Tr. crateriforme* begins to dissolve caseine the 4th day, and that the reaction is complete the 19th day of growth, while *Tr. violaceum* performed the same function on the 7th and 40th day respectively. The production of endotryptase by *Tr. violaceum* was twice that of *Tr. crateriforme*. The formation of invertase was greater after 21 days in *Tr. violaceum* than in *Tr. crateriforme*. The latter fungus ferments glucose, the former does not. Optimal temperature for growth is 35 C in both. *Tr. crateriforme* dies off at 45 C, and *Tr. violaceum* at 43 C.

T. J. KUROTCHKIN investigated the fungistatic effect of sodium hyposulphate on cultures of pathogenic fungi. The effect was tested on SABOURAUD's medium with an addition of sodium hyposulphate. Complete inhibition of growth was observed in *Sporotrichum Schenkii*, *Sporotrichum asteroides* and *Epidermophyton pernetti*, at a concentration of 10 to 20 %. A number of fungi showed a slowed down growth at the beginning with later, however, a relatively accelerated one, due mainly to the adaptation of the fungi to the new medium. Different yeasts and yeastlike fungi died off at a concentration of 1 %, while *Torula rubra* and *Monilia tropicalis* were more resistent and they grew at a concentration of 10 %. These experiments throw doubt upon the usefulness of baths with sodium thiosulphate for the prevention and treatment of mycotic conditions of the feet.

P. W. SCHMIDT (1938*a*) reports further investigations upon the influence of volatile oils upon pathogenic fungi. The examination of the effect of volatile oils upon young cultures of *Epidermophyton interdigitale* by means of the watch glass method according to which four drops of oil act on the culture for from 5 to 7 mm distance, showed that the fungus was destroyed in 24 hrs. by ol. sinapsis, ol. chenopodii, ol thymi, ol. amygdalarum amararum, and ol. menthae piperitae. Ol. bergamottae inhibited the growth, while alcohol, sublimate and potassium iodide solution had little effect. Experiments in *Trichophyton* infection on the guinea-pig (*Tr. gypseum*) demonstrated that some of these volatile oils may inhibit the infection but on stopping the treatment a severe recurrence of the infection appears .The method of application of these oils is important. A good effect was observed by combining different volatile oils in collodium mixed with castor oil or olive oil.

FRANZ KUHN measured the growth of molds in cultures as influenced by different gas tensions. He used and described two new methods. At a pressure of 300 mm Hg the

latent time of germination seems to be prolonged. At 200mm Hg growth and fructification are somewhat slowed down. This restraining influence is noticable at 100 mm Hg and ceases entirely at 4 mm Hg. In the same way the growth of molds on commodities can be slowed down, inhibited by a certain tension of CO_2. A change in taste or a poisoneous effect similar to the effect of H_2S is not to be feared.

Rolf Ebeling investigated the influence of light upon pigment formation in *Penicillium funiculosum* Thom. The pigment of this mold shows a crimson color in artefic-ial light, an orange-red hue in daylight. If the subcultures are kept in darkness the fungus ceases to produce pigment, which again appears in the light. Blue light is the most efficient in pigment formation.

M. M. Itkin investigated the effect of disinfectants on fungi in pathologic mate-rial. He infected hair with an endothrix *Trichophyton* in great number. These hair were treated afterwards in a sterile petri dish with different disinfectants for a certain time. The disinfectants removed, the hair were washed repeatedly and inoculated on nutrient media. The dermatophyta showed an extreme resistence to chemical disinfectants greater than against heat. Iodine, sulphur, salicylic acid, tar are fungicidal and fungistatic drugs; the same is true for methylene blue and methyl violet. Salicylic acid and iodine are more efficient if dissolved in methyl alcohol. A new fungicide is monochlorsalicylic acid in methylalcohol, valuable for disinfection of objects (comb, shaving brush, etc), but not for metal objects because they are corroded.

P. K. Fraser (1938*b*) investigated the viability of some common pathogenic fungi. The resistence of infected scales, with special regards to *epidermophytosis* of the feet, is scrut-inized against various factors: heat, cold, humidity, pH, X-ray, rand ultraviolet rays, chemical agents. The vitality of fungi in scales is no evidence for the permanent patho-genicity of these fungi. He points out the obvious contradiction between the great sensiti-veness of these fungi to chemical, caloric, and other factors and the total failure of therapy of any kind in foot mycosis. A further obvious contradiction persists in the extremely superficial localization of the fungus elements in the skin and the rather deep effect of most of the chemicals used. Notwithstanding this condition is often extremely stubburn.

These two statements of Fraser are of fundamental value. For those who struggle for new knowledge and seek for new fields of research these statements might well be the starting point of new investigations. To those who think to solve the question of „foot mycoses" on the basis of trichophyton allergy we recommend this article. There is no contradiction in the facts stated by Fraser, for the simple reason because the fungi demonstrated so easily in the most superficial layers of the skin lesions are secondary saprophytes and have no etiologic significance. Those who are interested in these problems have only to use the proper histopathological and bacteriological methods indicated by Benedek to find the real parasite in the closed primary lesions.

P. W. Schmidt (1938*b*) made investigations on the effect of volatile oils on pathogenic fungi. 16 volatile oils on the market were examined. The test fungus was the *Epidermo-phyton* Kaufmann-Wolf. By means of the watch glass method according to Kolle,mustard oil, ol. chenopodii and ol. thymi killed the young inoculum of *E. interdigitale* within 24 hrs. Animal experiments especially in the guinea-pig are more valuable for an insight into the efficiency of fungicides. Mustard oil in higher concentration was too irritating, and still the fungi were not killed. The incorporation of eucalyptus-, mustard-, thyme-, peppermint oils in flexible collodium gave the best result.

J. W. Williams (1938*c*) made extensive research on difference in growth of pathogenic fungi with variation of medium and oxygen tension. Selectivity with reference to the organism is dependent on the atmosphere-medium relationship. The medium is character-ized by its constituents, their physical and chemical state, and the atmosphere by gas tension, humidity, temperature and air velocity. Organisms are characterized by their evolutionary status, adaptations, and resistences. For infection the organism, the neces-sary atmosphere-medium relationship, together with tissue injury, are required. Such injury to the tissue differentiates pathogenic fungi from saprophytic ones. In disease the selectivity is determined by the constituents of the organ and its oxygen tension. It is questionable that the atmosphere ever functions in a strictly passive sense. Invasion of medium results from the organism seeking for the most favorable atmosphere-medium relationship for growth. Subsurface tendency in growth apparently bears a relationship to the anaerobic nature of the organisms.

S. M. Peck and H. Rosenfeld investigated the effects of pH concentration, fatty acids and vitamin C on the growth of fungi.

The effects of varying pH on the growth of *Tr. gypseum*, *E. inguinale* and *M. albicans* were studied. When NaOH or HCl were used to obtain the required initial pH value, all the organisms grew over an initial pH range of 4.0 to 10.0. The effect of pH on *Tr. gypseum* was greater in liquid than in solid media. The addition of McIllvaine's buffer (citric acid and disodium phosphate) had a retarding effect on the growth of all three organisms. The retardation effect after addition of buffers on the growth of fungi was probably due to the influence of the formation of a final pH value, which was optimal for the growth of the organisms. The fungicidal effects of the fatty acid series beginning with capric acid with 10 carbon atoms, as well as the unsaturated undecylenic acid were studied. Valeric acid with five carbon atoms in its chain seems to have had the greatest fungicidal properties of all fatty acids studied. It was fungicidal in a concentration of 0.003%. The fungicidal and fungostatic effects of the fatty acids and their salts were not due to the pH produced by their addition to the media. The addition of vitamins A B C and D to culture media were investigated for their effects on the growth of *Tr. gypseum*, *E. inguinale* and *M. albicans*. Vitamins A, B and D did not effect the growth of the fungi. Cevitaminic acid, however, has definite fungicidal and fungostatic properties which are not due primarily to changes in the pH produced by the addition of this substance to the media.

Due to its importance for further mycological research we want to call attention to a contribution of A. Spanedda concerning bacterial polysaccharides. They showed a great specificity not only as to the species but even as to the type (cf. pneumococci). This discovery opened a new outlook in bacteriology and in immunology, correcting and modifying our views in fundamental conceptions. It has been generally assumed, that there are the protein components of the infecting bacterial agent which are responsible for the immunological phenomena in the animal body, and that their chemical constitution and molecular configuration alone determine their antigenic properties. The complete chemical structure of these polysaccharids is not yet thoroughly known, but it is certain that they have a much more complex structure than the monose, demonstrating an extreme variety and complexity in the position of the specific molecular group.

E. D. de Lamater and Rhoda W. Benham carried out experimental studies with the dermatophytes. They investigated the primary mycotic infection and its course in the guinea-pig, rabbit, and cat. In agreement with the older literature (Bloch, Pecori, Lombardo, Hanawa, Saeves, Martenstein, W. Jadassohn, Sulzberger) they came by and large to the same results concerning the varying characters and intensity of certain dermatophytes inoculated cutaneously. Injections of spores into the circulation produced widely disseminated lesions. Further they dealt with immunity and hypersensitivity produced in laboratory animals. The results of all these experiments agree with those of previous work.

P. Negroni (1938*d*) tested the influence in vitro of the following stains: fuchsin B, methylene blue, gentiana violet, malachite green and methyl green on the morphology and biology of *Mycotorula albicans*. After several transfers in beer-wort containing 1 : 50.000, 1 : 25.000, and 1 : 10.000 of these stains, cultures on beer wort agar in petri dishes were made and the R type colonies (small colonies with rough edges and surface) were picked up. Subcultures of these colonies were studied morphologically and biologically. It was found that methyl green induced the most profound changes in *Mycotorula albicans*, which developed a sparse pseudomycelium in potato water (25‰) and with the *Candida* type of growth. After heating (5 minutes in a boiling water bath) or by the action of a trypaflavine solution its suspension in saline solution agglutinates spontaneously and loses its pathogenic power for the rabbit. He finally observed in some cases both *Candida* and *Mycotorula* type of growth in the same culture.

H. Gougerot presented the results of his highly interesting investigations on the diagnostic, therapeutic, prognostic and prophylactic value of Wood's light.

Epidermomycoses and tineas show a variable appearance in Wood's light. Fungus hair have a vivid fluorescence with a greenish-blue hue, remaining even after washing and cleansing with ether or xylol and after removal from the scalp, quite different from the white fluorescence of the scales. In *Microsporum* infection the „ectothrix" character of the parasite lends a particular intensity to the luminosity of the hairshafts full of

parasites. *Tinea trichophytina* gives a less luminous fluorescence. *Favus* hair show a greenish fluorescence and being hidden below the crusts (scutula) and hyperkeratotic masses show a yellowish-gray luminescense. *Tinea trichophytina* reveals on the glabrous skin brownish-red color upon an erythematous field, with purple fluorescence at the border of the scale.

Erythrasma of the armpit and groins shows a magnificient red fluorescence sharply limited at the border of visible erythrasma.

Pityriasis versicolor reveals several different aspects. The patches are sometimes barely visible in Wood-light with a salmon-colored fluorescence. One can not detect any invisible elements, and the lesions are much less visible in Wood light than in daylight. The fluorescence is sometimes chamois, sometimes golden brown, sometimes uniform, or more vivid, more luminiscent at the border where the scales are more abundant. In other cases *pityriasis versicolor* appears in Wood-light with a whitish-pink-salmon-color which seems to be peculiar to this saprophytia. The visible *Pityriasis versicolor* is frequently surrounded by a halo (first observed by Gougerot) called by him „invisible" *pityriasis versicolor*, 1 to 5 mm sometimes even several cm in breadth. Wood-light detects also an invisible *pityriasis versicolor* not centered by a visible one. These invisible patches of *pityriasis versicolor* frequently contain parasites detectable by microscopic examination.

What causes the fluorescence of these lesions can not be momentarily decided, because neither the parasites nor the scales seem to cause this phenomenon. An extract of *pityriasis versicolor* similar to the acetone extract of *Microsporum lanosum* and *Trichophyton gypseum*, which produce a screen effect for ultraviolet light has not yet been demonstrated.

The dry blisters of the dyshidrosiform plantar mycoses (pompholyx of the sole) fluoresce with a yellowish-green luster. Erythematous patches appear brownish.

He could not find any differential signs in Wood-light between epidermomycoses, dyshidrosis (pompholyx), and dyshidrosiform eczema of the soles. This is not surprising as they are in my opinion three clinical phases of the same etiological entity (pompholyx) as a hematogenous, endoparasitic affair.

H. P. Jacobson (1938*a*) investigated the effects of roentgen rays on fungi in vitro. Ten different organisms: *Epidermophyton interdigitale*, *Achorion Schoenleini*, *Microsporum felineum*, *Monilia*, *Cryptococcus*, *Actinomyces*, *Coccidioides immitis*, *Trichophyton violaceum*, *Epidermophyton inguinale*, *Aspergillus niger* were studied in vitro to determine the effect of X-ray irradiation on their growth. The parasites received identical quantities of irradiation. One set of tubes of each organism was exposed to X-rays, from a fraction of 1 up to 10 skin units from one and a half to several hours after inoculation; another set was similarly treated two or more days after planting.

With *E. interdigitale* no effect of irradiation on the medium or, in turn, on the growing culture was found, and copper and irradiation combined had no effect either directly on the organism or indirectly through the medium on the growing fungus. In addition, the possibility of a ten days delayed reaction was investigated for this organism, for *M. felineum* and for *A. schoenleini*, but no such effect was detected. The effect of the irradiation with different doses and intervals between planting and exposure to the rays varied considerably in the different cultures. The effects of irradiation on the second generation of cultures proved to be generally non-existent.

L. Varia

(*a*) *Trichomycosis*

Morris Moore (1938*c*) reported on a case of *trichomycosis axillaris rubra*. Describing the saprophytic group of fungus diseases he includes seborrheic dermatitis! *Trichomycosis axillaris* (*chromotrichomycosis*, *trichomycosis palmellina*, *trichonocardiasis axillaris*) is caused by *Actinomyces tenuis* (Cast.) Dodge (*Nocardia tenuis*, *Cohnisteptothrix tenuis*, etc.). In the flava variety only *A. tenuis* is found, but in the nigra variety it is associated with *Micrococcus nigrescens*, producing black pigment, and in the rubra type with

a *Micrococcus* (*Rhodococcus*, Cast.) producing red pigment. In the case described *A. tenuis* was found together with *Micrococcus* (*Rhodococcus*) Cast.

Hisasi Turu made histological studies on „perlèche" and yeasts in the „local"(!?) layer. He cultured yeasts 24 times (77 %) from the commissure of the mouth and 28 times (90 %) from the sputum in 31 patients with perlèche. He made histological examinations in five patients. He found the signs of an acute inflammatory process in the section and in two cases yeasts and mycelia in the „local layer" (supposedly the str. corneum is meant) Hence the conclusion that yeasts are the causative organisms of this condition.

The weakness of this type of conclusions is evident. Findings of microorganisms in superficial serum-crusts have no weight at all as evidence, because the author demonstrated the presence of yeasts in more cases in the sputum of the same persons than in the lesion of perlèche. Furthermore microorganisms must be detected in the deeper layers of the tissue and the inflammatory process must be the sequence of the invasion of the parasites to prove any etiological significance.

K. J. Mülhens carried out observations on three strains of *Cephalosporium* cultured from human blood and urine. Two of these strains were found in catheterized urine and one was recovered from the blood of a girl suffering from a septic condition. Beside examination on different nutrient media, animal experiments were done in guine-apig and in mice and one inoculation experiment in human skin. An obvious pathogenic virulence of the three strains of Cephalosporium could not be determined. The strains differed from each other and in comparison with other *Cephalosporium* strains through their size, fermentation and color of the cultures. An exact differentiation of the three strains according to these characteristics could not be made.

Toyoaki Kambayashi isolated a *Cephalosporium nigrum* n.sp. from a dermatomycosis in Addis Ababa, Ethiopia. The mycosis appeared at first on the extensor side of the left wrist, progressed to the thumbs and attacked finally both legs.

Y. Takatsuki described the first dermatomycosis from *Alternaria vitis* Cavara, 1888. *Alternaria*, mainly phytopathogenic, was isolated first in Japan in a meningitis-like affection. This dermatomycosis was found in a 15 year old girl with vesiculo-pustular lesions on the extremities, abdominal region, and in both eyes. Microscopically the fungus elements were found in the roof of the blisters and in scales. The fungus was found to be pathogenic in humans and in animals.

N. V. Greco, A. A. Fernandez and A. Bigatti described a case of dermatomycosis involving a great part of the body caused by a fungus of the genus *Cladosporium*, nearly related to *Cladosporium herbarum*. In contradistinction with other infections with *Cladosporium* (*Tinea nigra* or *Pityriasis nigra palmaris* caused by *Cladosporium mansoni*, *keratomycosis nigra palmaris* caused by *Cladosporium Wernecki*) no pigment formation in the skin was observed.

A. Fontana investigated some common features in dermatology and comparative phytopathology. Comparing epidermo- and dermatomycoses, pediculosis, acariasis, myiasis linearis, he found definite analogies.

J. F. Hamilton gave a further report on pseudomycosis causing indolent leg ulcers and observed in 54 patients. Pseudomycosis was first recognized as a syndrome by Castellani in Ceylon. In the chronic undermined skin ulcers a microorganism was found and called *Micrococcus myceticus* Castellani. The report deals with clinical, laboratory and cultural features of the investigation.

(*b*) *Pityriasis versicolor*

Morris Moore (1938*d*) observed an extensive involvement of the inguinal region and the genito-crural folds caused by *Malassezia furfur*.

R. L. Baer, described an unusual case involving the scalp. The *Microsporon furfur* invaded the skin of the scalp, neck, chest, the arms, the pubic and genital regions and the right leg. This is the first case of involvement of the scalp reported in the American literature.

H. Gougerot and A. Patte saw an extensive case of this condition involving the trunk with patches arranged according to the course of the cutaneous distribution of the blood vessels. In Wood's light the same distribution was seen. Beside these, other foci were revealed which were invisible in daylight.

P. G. CASTELLINO observed two cases in which typical lesions of *pityriasis versicolor* were followed secondarily by extensive lesions of seborrheic dermatitis. Provocation of other skin lesions by *pityriasis versicolor* is very rare.

M. S. CATALDI succeeded in getting pure culture of *Leptothrix ochracea* from the tributaries of the central water supply of Buenos Aires. As culture medium he used pepton agar with manganese carbonate, iron citrate and ammonium.

G. RIVELLONI described the dermatosis on the upper lip of a 27 year old farmer which showed the characteristics of a *tinea trichophytina*. The culture yielded the extremely rare fungus: *Malbranchea Bolognesi-Chiurcoi* (Pollacci-Vuillemin). This is the second instance in which this fungus has been found in a human lesion. Inoculation experiments in the human and in animals were negative.

ALDO CASTELLANI (1938*b*) described a form of *pruritus ani* caused by fungi (mycetes, higher fungi) usually *Trichophyton* like fungi and monilial fungi. The formers are the same which produce ordinary *tinea cruris* (dhobie itch) and *pruritus interdigitalis peduum* (mango toe). The commonest species found by the author was *Epidermophyton floccosum* Harz (*E. cruris* Cast., or *E. inguinale* Sab.), *Trichophyton rubrum* Castellani, and certain trichophyta of the so-called „*gypseum*" type were found.

Yeastlike fungi were usually of the genus *Monilia* and occasionally of the genera *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Cryptococcus*, *Torulopsis*, *Hansenula* (*Willia*).

Etiologically two varieties of mycotic (phycotic) *pruritus ani* are distinguished: (1) trichophytic (epidermophytic) variety and (2) monilial variety. The majority of the cases of mycotic *pruritus ani* are of the epidermophytic variety and the yeastlike organisms present are secondary infective agents.

(*c*) *Seborrheic dermatitis*

Dandruff and seborrhea as well as seborrheic dermatitis are still in the focus of manifold interests.

Since MALASSEZ discovered the *Pityrosporon ovale* in the branny scales and follicles of the scalp, innumerable papers have been published about the flora of the normal and diseased scalp. Later P. G. UNNA described this scaly condition of the scalp as pityriasis capitis and connected it with his great conception of seborrheic dermatitis. He re-discovered the *Pityrosporon ovale*, called it „bottle bacillus" and connected it as the etiologic agent with pityriasis capitis. That was at the turn of the century, which was almost the climax of the modern bacteriologic era, an epoch in which due to KOCH's postulates, every disease had to have a separate germ as etiologic agent connected exclusively with the condition in question. This trend of the time not even the great UNNA could escape. Then UNNA's great adversary, SABOURAUD published his work on „Pityriasis" and with a hardly conceivable lack of apprehension for UNNA's great, fundamental conception of the seborrheic dermatitis, he destroyed the entity of this protean skin condition. He broke it up into small parts again, characterizing as seborrheic dermatitis only cases in which *Pityrosporon ovale* could be found in the superficial scales of the lesions.

It will never be understood how SABOURAUD, the great founder of modern mycology could come to this short-sighted conclusion without evidence [1]). But his great authority is still working in this direction misleading men of the younger generation entering the field. SABOURAUD could not conceive that the *Pityrosporon ovale*, *Staphylococcus albus*, the „microbacillus" have nothing to do etiologically with seborrheic dermatitis, that these germs rather were poor saprophytes in a detritus of scaly organic matter. SABOURAUD's conclusion per analogiam seemingly was: if certain hyphomycetes are apt to cause superficial skin lesions (e.g. superficial trichophytia) and the parasite are to be found only in the superficial layers of the stratum corneum, why could one not consider all these germs appearing fairly regularly in the detritus as etiological agents?!

And this bogy of nosoparasites has haunted the mind of dermatologists ever since.

G. M. MACKEE, G. M. LEWIS, M. J. SPENCE and M. E. HOPPER undertook a critical investigation of the flora of the normal and diseased scalp. In a good piece of work they show what they found in this inventory. Their conclusions are just as

[1]) R. SABOURAUD, Pityriasis. Paris, Masson & Co. 1904.

unbiased as their inventory is complete. They culturally registered *Staphylococcus albus* (scalp 76 %, hair roots 22 %), *Staphylococcus epidermidis* (scalp 17 %, hair roots 4 %), scurf *Staphylococcus* (scalp 61 %, hair roots 28 %), *Staphylococcus aureus* (scalp 11 %, hair roots 4 %), diphtheroids (scalp 3 %, hair roots 47 %), undetermined bacteria, rods, and cocci (scalp 39 %, hair roots 35 %); *Pityrosporon ovale* was identified only by direct examination of the scrapings (not by culture) and was found in 86 % of the investigated 100 cases. Fungi of the following genera were also found: *Aspergillus*, *Macrosporium*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Cryptococcus*, *Torula*, *Dematium* and *Mycoderma*. Concerning the „etiologic" rôle of *Pityrosporon ovale* the authors conclude: „The occurrence at times of the organism (*P. ovale*) on all types of scalp and the fact that it may occasionally be found in as large numbers on the normal scalp as on one with severe dandruff leads one to consider the possibility that this yeast is a saprophyte and grows well in the presence of scaling or in sebaceous material but is not responsible for the presence of these findings" [1]).

Roy L. Kile and M. F. Engman reported on further study of the relation of *Pityrosporon ovale* to seborrheic dermatitis. To solve the problem the authors approached in the following way. The patients were the most part adolescent, suffering from acne and seborrheic dermatitis. Two types of tests were made: (1) scratching the skin of the chest and applying a whole culture of the organism with and without applying an ointment to the area (43 subjects), and (2) inoculation with a patient's own scales of an excoriated area on the chest (10 subjects). Control was the adjacent normal skin. Intradermal tests with the various types of extracts of the organism (*Pityrosporon*) were employed for 37 subjects, and whole cultures of organisms were inoculated into the intact skin of the scalp of 26 subjects whose scalps were clinically free from seborrheic dermatitis or pityriasis. Pityrosporin (extract of the organism) was used for intradermal tests and observed 24 to 48 hrs. The reactions were mild, appearing in 24 hrs. as a faint erythema, which slowly faded in the next few days. The presence of clinical seborrheic eczema or some other cutaneous eruption, such as psoriasis, did not seem to influence the reaction.

Their naive and amazing conclusions have to be quoted literally: „The most significant and convincing studies were those in which the scalp was inoculated with the whole culture of the organism (*Pityrosporon ovale*). When one observes a scalp clinically free from seborrheic eczema, inoculates it with *P. ovale* and then in a few weeks(!!) finds numerous scales, itching and occasionally even excoriations, the relation of this organism to the disease is evident."

In the discussion to this paper Richard S. Weiss tried to support the conclusions of the authors in the same unsatisfactory manner and Morris Moore, an able mycologist, joined him with a regrettable excursion in a seemingly entirely strange field for him, in the discussion of the histopathology of seborrheic dermatitis.

It is not surprising that Marion B. Sulzberger gave an annihilating criticism concerning the histological sections demonstrated by Morris Moore. He had seen no histologic or clinical pictures presented which demonstrate the production of a typical cutaneous disease of long duration without spontaneous healing or of lesions characteristic of seborrheic eczema experimentally produced by *P. ovale* in human inoculations. One can take many contaminants of the skin, many saprophytic fungi, such as mucors, aspergilli, penicillia, and many other microorganisms which one finds on the cutaneous surface and by scarifying an area of normal skin and rubbing some culture into the injured surface produce lesions of the type which Drs. Engman and Kile have shown on the scalp, and which they produced by inoculation with *P. ovale*.

Tadayosi Arakawa (1938*a*) investigated two cases of severe seborrheic dermatitis of long duration. He found in the culture of the scales from the diseased areas using the cultural method developed by Benedek the *Schizosaccharomyces hominis* Benedek. (In the mean time the systemic position of this organism was changed and re-named as *B. endopara-*

[1]) T. Benedek made extensive investigations with a critical review of the literature on this subject several years ago. The publications concerning this topic were: T. Benedek, Dermat. Wchnschr. 88: 585—621; Bruhns and Kadisch: Zentralbl. f. Haut- u. Geschlechtskr. 29: 412—413; Unna, P. Jr. and E. Keil, Dermat. Wchnschr. 87: 1892. McKee and associates seemingly overlooked all these papers bringing fundamental contributions and conclusions on this matter.

siticus, see Mycopathologia 1: 26—40, 1938). The pathogenicity of this organism was found to change (mouse: intraperitoneal, rabbit: intracutaneous). The complement fixation test and agglutination with this organism were negative in one patient, while the other yielded positive reactions. In the blood of the latter patient the same microorganism was found culturally. Skin tests with *B. endoparasiticus* were positive, too. Autogenous vaccine improved the condition extraordinarily.

This contribution has great significance. T. ARAKAWA succeeded in substantiating, though in only two cases, the findings of BENEDEK, KEIL, and others concerning UNNA's seborrheic dermatitis. He found the *B. endoparasiticus* Benedek culturally in the lesion and the same time, in the blood, positive complement fixation test and positive intracutaneous test. He found further the therapeutic value of the vaccine. This is the first report as far as we know from Japan. The postulate of BENEDEK that the *B. endoparasiticus* is a constant endoparasite in all human races has obtained substantiation also in the Japanese race.

TADAYOSI ARAKAWA (1938*b*) made cultural experiments with the *Schizosaccharomyces hominis* Benedek (now: *B. endoparasiticus* Benedek). He found the 8% glucose agar suggested by BENEDEK the optimal medium for this microorganism at a pH 7.6 to 8. Furthermore he substantiated the formation of protease and casease and the lack of lipase and amylase.

(*d*) *Allergy from air-born fungal elements*

SCHONWALD made investigations on allergic molds in the pacific Northwest. The relatively high humidity and the considerable incidence of rainy weather in the costal regions of the Pacific Northwest causes an abundance of moldes. A study of the atmosphere revealed great many air-borne spores of the following molds: *Alternaria nigrescens*, *Alternaria tenuis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Hormodendrum cladosporoides*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium italicum*, *Rhizopus nigricans*, *Trichoderma Koeningii*. The most abundant mold was *Rhizopus nigricans*. *Penicillium expansum*, the mold which causes the decay of apples, is next in frequency. *Trichoderma Koeningii*, a very common soil fungus, was a close third.

FR. M. RACKEMANN, TH. G. RANDOLPH and E. F. GUBA were interested in the question of the specificity of fungus allergy. The specificity of mold extracts, at least of the species *Cladosporium*, is demonstrated in a striking manner by intradermal tests made on four patients sensitive to *Cladosporium fulvum* (tomato leaf mold). In each of the four cases, asthma resulted from exposure to the spores of this mold growing in a commercial tomato greenhouse. Each patient reacted strongly to *Cladosporium fulvum* but showed little or no reaction to other species of *Cladosporium* tested. Passive transfer of the skin test to normal persons was successfully in each of the four cases.

(*e*) *Mycoses in occupational dermatoses*

JAUSION, HYRONIMUS and KOUCHNER report on „mycotic eczema" in a joiner, working partly also with tropical woods. The lesions appeared at first only on the hands, it spread later all over the body. Skin tests for allergy were negative with the different woods. They detected a hypersensibility to trichophytin, epidermophytin, levurin and microsporin. Culturally they found different species of fungi in the skin lesions. Treatment with the corresponding vaccines had a good therapeutic effect. Later slight recurrences were noted. It is interesting to note that different species of fungi were found not only in the different woods used, but also in the glue applied to veneer work.

C. LOMBARDO observed a dermatitis localized in the interdigital spaces in many female workers in cigar factories caused by various fungi.

(*f*) *Otomycoses*

G. McF. MOOD treated otomycosis with autogenous vaccine. It was used in 32 cases occuring in and around Charleston, South Carolina, a subtropical area. Twenty of these patients lived in the city and 12 in the countryside. Two were over 60 year old, one was 2

and $^1/_2$ years old and the others varied in age from 15 to 49. None had middle ear infections. Most of them were given vaccine because of failure to respond to the usual local treatments. One case has been treated locally for two years without response. 16 were male, 16 female. In 30 cases one ear only was involved, in 2, both ears. In one of these two, the second ear flared up after a few dose of vaccine had been given. Infections in both ears disappeared rapidly upon administration of smaller doses.

The cultural diagnosis revealed *Aspergillus glaucus* (16 times), *A. niger* (11 times), *A. nidulans* (2 times), *A. oryzae* (once), *A. flavus* (once), *Penicillium* (once). Of the 32 cases 24 received 16 doses, eight more than 16 doses. With the exception of one case, all were treated with autogenous vaccine containing a „fraction" isolated from the mold cultures, the fraction being soluble in normal saline solution after extraction of the fungus with alcohol and ether. Three doses a week were given. The largest dose was two minimes (about .13 gm) of a 1 : 1 million dilution. The smallest dose given was one minim (.065 cc) of a 1 : 100 trillion (!!) dilution.

W. D. Gill gave an excellent survey about our knowledge of otomycosis concerning its prevalence, symptomatology and treatment. Some of the fungi which may be mentioned as the cause of lesions comming within the domaine of otolaryngology are the *Actinomyces*, *Blastomyces*, with their subdivisions, *Torula*, *Oidia*, *Monilia* and *Saccharomyces*. The Aspergilli, Penicillia, *Sporotrichum*, Leptothrices and Mucoraceae are also important. Extension of fungus infection into the larynx and the bronchopulmonary tree and lung tissue is not uncommon. They run a clinical course similar to that of tuberculosis. Bronchoscopic examination and cultural studies are of first importance in differential diagnosis.

Laryngeal blastomycosis has been described several times, even with involvement of the tongue. In the mucous membranes of the oropharynx Torulae cause lesions of an indurative character with only slight accompanying inflammatory sypmtoms. Torulae have a marked predilection for the central nervous system, and in different cases it was found that local lesions in the upper respiratory tract antedated the central nervous system involvement in a high percentage of patients. Oidia cause a type of infection which is fairly common in infants and is the oldest mycotic infection of which we have knowledge (thrush). *Coccidioides* usually gain access to the body through the respiratory tract (cf. Dickson: Coccidioidomycosis in this survey). A recurrent rhinitis similar to a cold in the head, and not yielding to the usual methods of treatment, often marks the onset of coccidioidomycosis. Actinomycosis may attack the tongue or mucous surfaces in the oropharynx. Its site of origin is characterized by a deep seated nodule, which increases in size and eventually ruptures and discharges granules which are characteristic of the ray fungus. *Leptothrix* infection is encountered fairly often in the tonsillar region. In this type of infection white warty masses are found growing from the tonsil crypts. Sporotrichosis may cause lesions of the oral, lingual, pharyngeal and conjunctival tissues.

Fungi may invade the nasal accessory sinuses. A case of pneumocele of the frontal sinus has been reported which was thought to be secondary to a blastomycotic infection. In two instances the invasion of the nasal accessory sinuses by torula have occurred. A single instance of pulmonary aspergillosis in a white male is on record.

Infection of the skin of the external auditory canal with various pathogenic fungi gives rise to a condition which has been designated as otomycosis. The usual causative organisms are *Aspergillus*, pathogenic yeats, *Penicillium*, and Mucoraceae. If the infection is not brought under control, penetration of the subepithelial structures takes place.

The principal danger in most mycotic infections is that of the extension from the primary focus to the deeper organs, such as the lungs, or other viscera, and as is often the case to the central nervous system. In all mycotic infections which become generalized and in most of the local lesions the treatment is essentially the same and it consists in the use of iodine and X-ray. In certain mycotic infections such as torulosis, moniliasis and coccidioidomycosis, vaccines and filtrates of cultures have been used with varying degree of success. In otomycosis fungicides and fungostatic drugs are used as metacresyl acetate, or cresatin, tricresol in glycerin, Castellani's solution, a saturated alcoholic solution of basic fuchsin to which 10 % resorcinol has been added. It also contains phenol, boric acid and acetone.

(*g*) *Mycoses in the tropics*

L. J. A. Loewenthal discusses the fungus diseases in negroes as observed especially in Uganda (Africa). As to the fungi encountered, there are three main divisions: Phycomycetes, Ascomycetes and Basidiomycetes. Phycomycetes: (1) zygomycetes, there are only a few species among the Mucorineae of interest to the medical man; (2) Chytridiaceae; there are two genera of medical importance: (*a*) *Rhinosporidium* and (*b*) *Coccidioides*, the latter being responsible for a variety of blastomycosis in man. The cutaneous lesions are primary or secondary. In the primary, it is presumed that the disease is acquired through a wound or abrasion of the skin. It may be a purplish-red papule turning to painful and papillomatous, sometimes verrucous lesions. In the secondary forms, gummata and abscess may be formed in or under the skin and by rupture they produce deep ulcers or sinuses, often with considerable induration.

Furthermore he discusses some common fungus diseases due to *Monilia*. These are of four types: the blastomycotic, forming subcutaneous abscesses; continuous water bath and intertriginous lesions occuring commonly as occupational diseases in dishwashers, laundresses; miscellaneous types including the cutaneous thrush which follows buccal lesions in infants and perlèche at the angle of the mouth. Prickly heat is very rare in negroes, as the sweat ducts are particularly patulous. There are various types of trichomycoses, all of which are characterized by gritty nodules on the hair.

Aldo Castellani (1938*c*) described the *achromia flava amycotica* (*pseudo-tinea flava*, *achromia flava tropicalis*). This condition was found in 1925 in Central America as a non-mycotic yellow pinta. Pardo Castello and Dominiquez later described in Cuba a very similar or identical condition, which, however, they considered to be of parasitic origin, due to *Aspergillus*, and called it achromia parasitica.

This condition is found in tropical and subtropical countries, chiefly in Central America and the West Indies. Cases occur in Louisiana (USA). The condition is not regarded of fungal origin. Sometimes one can find in scrapings a few yeastlike cells, various molds, but they are found also on the healthy skin of the same individual. One or two or several spots appear on the skin, usually on the face or neck which are non-pruriginous, painless and not tender. In negroes the color is yellow or pale yellow. In the fully developed spots the surface is smooth, not elevated; at times wrinkled and very slightly scaly. The depigmentation does not proceed to complete a-pigmentation, the spots remaining yellowish, but never becoming white. The disease must be differentiated principally from *tinea flava*; *tinea aspergillina*; leucoderma; yellow achromia, *pinta*; sun-light achromia (sun-light *pseudo-tinea flava guttata*), *nevus anemicus*. There is no treatment.

In contrast with the preceding report the greatest interest is found in an investigation of B. Saenz, J. Gran Triana, and José Alfonso who found spirochaetes on the active border of *pinta* lesions and also in the lymph from superficial glands.

A negro, aged 60, had noticed changes on the skin of the hands and feet at least 10 years ago. Over the wrists, on the palmar aspect depigmented areas were observed surrounded by hyperpigmented skin of black-bluish tint, presenting a vitiligo like appearance. The limiting border showed distinct infiltration of the skin. On the dorsum of the hands, there was no discoloration, pronounced atrophy was present, more extensive on the left hand. Similar aspects were observed on the feet. Enlarged superficial lymph nodes were found in the groin, neck, along the biceps and epitrochelar. They were hard, indolent and movable under the skin. Scrapings from the border of the lesions on hands and feet, show in the darkfield the presence of abundant spirochaetes, impossible to differentiate from those observed in syphilis and in yaws. By aspiration with a syringe spirochaetes were also detected in the lymph of the glands. Biposies were performed on the hand and the sole and the slides stained according to Levaditi proved the presence of spirochaetes in the epidermis and in the corium.

This finding is very interesting, all the more because various authors, principally Howard Fox [1]) refused emphatically to consider pinta as a dermatomycosis.

---

[1]) Compare: Howard Fox, Mal del Pinto in Mexico. Arch. Dermat. & Syp. 31: 227, 1935 and I. G. Urueña: Primer Censo del Mal del Pinto en la Republica Mexicana, 1929—1931, Mexico, Departmento de Salubridad Publica, Mexico, 1934.

M. Fungus infections in animals

The knowledge of fungus diseases in animals has certain interest also for the medical mycologist with regard to comparative pathology. Many of the fungi are primarily animal parasites transmitting the disease to humans by contact or they are even common parasites, common to men and animals.

J. Obrtel reported an endemic fungus infection among hoofed animals in the Prague zoological garden. First a pony got a *tinea*, the causative agent *Microsporon lanosum*. A few month later the same tinea appeared in several rendeers, in an elk, and in a camel, but the fungus could not be cultured from the lesions of these animals. Culture succeeds in animal infections much more rarely, than in humans, in less than 10 per cent. In the last five years 60 cases of *tinea microsporina* were observed in humans at Prague. In 78.3 % the causative agent was the *Microsporon Audouini*, in 21.7 % the *M. lanosum*. Consequently *tinea microsporina* is transmitted much more frequently from human to human than from animal to human.

J. Jakl examined 105 dogs the skin conditions of which were suspect for dermatomycoses. Pathogenic fungi were, however, recovered in but 10 %: three times *Achorion Quinckeanum*, five times *Microsporon lanosum* and twice *Trichophyton vinosum*.

Ch. Joyeux and J. Sautet investigated the lack of vitamine A with respect to the development of a tinea caused by *Microsporon felineum*. Two groups of guinea-pigs were kept one on a vitamine A poor diet, one on normal food. They were infected with a pleomorphic strain of *M. felineum* by means of scarification. The guinea-pigs kept on normal diet showed beside the infection and the invasion of the hair insignificant changes micro- and macroscopically whereas those on vitamine poor diet revealed macroscopically crust formation and marked infiltration on the spot of inoculation. The microscopic picture of these lesions showed an intensive hypertrophy of the epidermis, hyper- and parakeratosis, with marked round cell infiltration throughout the hyperkeratotic str. corneum. The inflammatory infiltration reached far down in the subcutis. The collagenous tissue was largely destroyed. The hair of the hypovitaminic animals were infected to a greater extent than in those on normal food.

Kirchenbauer observed a large endemic of *tinea trichophytina* among remounts of a cavalry depot. Out of 375 (340 were 4 years old) 197 remounts were infected in a short time with *Trichophyton*, while 35 six-year-old or still older remounts were resistent. The seat of the infection was under the saddle. A transmission to the grooms did not take place.

Niels Danbolt and K. Mossige observed silver foxes as sources of infection with *Trichophyton* in man. A number of silver foxes in a great silver fox farm showed fungus infection with loss of hair, discoloration and desquamation. The culture revealed *Tr. gypseum asteroides* in all the cases. Such endemics have a great importance for Norway, not only as a source of material loss due to depreciation of the furs, but also as a source of human infections. In 1936 Norway possessed about 18000 fur farms with 190.000 silver foxes and 30.000 to 40.000 employees. A number of infections occurred among the employees.

J. Witzigman reported on clinical observations on *Tinea trichophytina* in dogs. Two dogs showed a dermatomycosis in three different clinical forms: with (*a*) squamous, (*b*) crusty, and (*c*) deep lesions, in the same animal. Mycelium in hair was ectothrix without organs of reproduction. The transmission to white mice did not succeed but a dog took the infection in which the fungus peculiarly grew as an endothric with a great many spores. The taxonomic position of the fungus could not be determined.

A. Catanei made investigations on trichophytic allergy in the guinea-pig and the variation of the leucocytes in the experimental area.

Several publications deal with actinomycotic infection.

H. Keller described a case of actinomycosis of the kidneys and lungs in swine. This type of infection is extremely rare. The kidneys were much enlarged. Histologic examination showed extensive granules of actinomycosis in both organs. D. Slavin observed the ray fungus disease in a dog. The autopsy revealed multiple abscesses in the liver. The lungs showed 5—6 smaller abscesses. Smears demonstrated numerous Gram-positive filaments. Rieckert saw a primary actinomycosis of the skin and prepuce of a bull, characterized by numerous walnut to double fist size nodes. Origin of infection

unknown. At the same time the inguinal lymph glands were similarly infected. W. F. Guard observed the only real authentic case of equine actinomycosis. A black standard bred race horse, male, 4 years old, revealed numerous fistulous tracts in the submaxillary, pharyngeal, and cervical regions. Some sores discharged a clear serum-like fluid; others a profuse purulent exudate similar to actinomycotic pus. Examination of the pus revealed the presence of granules, which under the microscope appeared to be typical elements of the ray fungus.

A. J. Walker presented a preliminary report on fungal infections of mosquitoes in Sierra Leone recording their presence in 53 adult *Anopheles costalis*, 3 adult *A. funestus*, 2 *A. costalis* pupae, 543 *A. costalis* larvae, and 1 *A. funestus* larva. The infection in females occurs most frequently in the ovaries and causes sterilization. General infections are always fatal. Four different types of sporangia were observed. Attempts to grow mycelium and sporangia on arteficial medium have as yet been unsuccessful. With four exceptions, all of the infections were found in *Anopheles costalis*, one of the most important vectors of malaria in West Africa.

With regard to the excellent results of vaccinotherapy in human infections with *Actinomyces* it is of some interest to compare the results of similar endeavor in the fight to eradicate this detrimental infection in animals. H. Traeger attempted vaccinotherapy in different forms of actinomycosis with a preparation „kutusan". It consists of a thick emulsion of living, acid-fast saprophytes of the Timothee-group and it was administered subsutaneously. The reports of 23 veterinarians about 500 cases treated with kutusam were very promising. This therapy is best for the treatment of actinomycosis of the tongue, the skin, the sublingual, submaxillary, and retropharyngeal lymph glands of cattle and in the infection of the udder of the sow. In maxillary actinomycosis of cattle a number of cures resulted. In advanced infections vaccinotherapy is, however, unsuccessful.

G. Carpentier, G. Guillot and R. Courtade described the inoculation of infected hair in trichophytia of the horse. They suggest placing hair to be examined in lactophenol and keeping them there for the time necessary for the microscopical diagnosis. One can use these same hair for cultural purposes with good success. The advantages are: the use of hair surely containing fungi, the certainty of success even if there are few hair with fungus elements, the removal of bacterial contamination. This method never changed or deteriorated the macroscopic aspect. Neither was the microscopical morphology of the fungi grown in culture changed nor was there any delay in growth despite their previous contact with lactophenol.

References

De Almeida, Fl., Rev. oto-laring. Sao Paulo, **4**, 679—683 — Alvarado, E. R. Gavina, T. Negri and D. Mosto, Rev. argent. Dermato-Sifilol. **22**, 354—359 — Ambrosioni, P. (1938*a*) Giorn. ital. di dermat. e sif. **79**, 671—676 — Ambrosioni, P. (1398*b*) Riv. di parassitol., **2**, 151—158 — Anderson, W., Clifton and H. R. Jenkins, New England J. Med. **219**, 953—954 — Angeliouk, E. O., Vestn. Venerol. i Dermat. No. 2, 77—79 — Arakawa, T. (1938*a*) Hihu-to Hitunyo (Hukuoka) **5**, 36—42; Arakawa, T. (1938*b*) Jap. J. Dermat. & Urol., **44**, 45 — Argenziano, G., Riforma med. 1938, 696—699 — Ariĕwitsch, A., Vestn. Venerol. i Dermat. No. 6, 22—31 — Ayres jr., S., Arch. Dermat. & Syph. **37**, 1066—1067.

Baer, R. L., Arch. Dermat. & Syph. **37**, 970—971 — Basu, C. C., Indian J. M. Research, **25**, 325—328 — Baudach, F., Ztschr. f. Tuberk. **79**, 228—233 — Baumgaertner, W., Deutsche med. Wchnschr. 1938, 1840—1841 — Beintema, K. and Folpmers, J. A., Dermat. Wchnschr. **106**, 653 — Benedek, T., (1938*a*) J. Trop. Med. **41**, 114—118; Benedek, T. (1938*b*) Arch. Dermat. & Syph. **38**, 282 — Berberian, D. A. (1938*a*), Arch. Dermat. & Syph. **38**, 367—372; Berberian, D. A. (1938*b*) **38**, 526—534 — v. Berde, K., Dermat. Wchnschr. **106**, 477 — Bergamasco, A., Diag. e tec. di lab. **9**, 264—268 — Bertoni, A., Riv. di biol. **1**, 269—280 — Böhmer, K., Deutsche Ztschr. f. d. ges. gerichtl. Med. **30**, 143—145 — Breitländer, Roentgenpraxis, **10**, 171 — Buschke, A., Dermat. Ztschr. **77**, 1—37.

Carol, W. L. L., Cremer, G., van Harem, H. B. & Bloemen, J. J., Arch. f. Dermat. u. Syph. **178**, 177—187 — Carpentier, G., Guillot, G. and Courtade, R., Ann. de parasitol.

16, 159—161 — Carrión, A. L. (1938*a*), Puerto Rico J. Pub. Health & Trop. Med. **13**, 367—382 — Carrión, A. L. and M. F. Pimentel-Imbert Puerto Rico J. Pub. Health & Trop. Med. **13**, 522—530 — Carrión, A. L. (1938*b*), Puerto Rico J. Pub. Health & Trop. Med. **14**, 37—71 — Cataldi, M. S., Folia biol., Buenos Aires, No. 79, 80, 81, 82, 337—344 (1937—1938) — Catanei, A. (1938*a*), Arch. Inst. Pasteur d'Algérie **16**, 21—25; Catanei, A. (1938*b*), Arch. Inst. Pasteur d'Algérie **16**, 227—231; Catanei, A. (1938*c*), Compt. rend. Soc. de biol. **128**, 255—256; Catanei, A. (1938*d*), Arch. Inst. Pasteur d'Algérie **16**, 18—20 — Castellani, A., (1938*a*), J. Trop. Med. **41**, 277 — Castellani, A. (1938*b*), J. Trop. Med. December, 1938 — Castellani, A. (1938*c*), J. Trop. Med. October 1st, 1938 — Castellino, P. G., Riforma med. 1938, 653—656 — Cavallero, C., Soc. internaz. di microbiol., Boll. d. sez. ital. 1938, 36 — Chorążak, T. and E. Mikulaszek, Przegl. dermat. **33**, 30—38 — Croft, C. C. & Black, L. A. (1938*a*), J. Lab. & Clin. Med. **23**, 1248—1258 — Croft, C. C. & Black, L. A. (1938*b*), J. Lab. & Clin. Med. **23**, 1259—1266 — Cudmore, J. H. & Lisa, J. R., Ann. Int. Med. **11**, 1747—1752 — Cummer, Clyde L., Arch. Dermat. & Syph. **36**, 844—845 — Da Cunha Motta, Ann. Fac. de med. de São Paulo, **13**, 239—263.

Danbolt, N. & Kj. Mossige, Acta dermat.-venerol. **19**, 368—373 — Davis, C. L., Stiles, Geo. W. & McGregor, A. N., J. Am. Vet. M. A. **92**, 562—563 — Dickson, E. C.: (1938*a*), J. A. M. A. **111**, 1362 — Dickson, E. C. and Myrnie A. Gifford (1938*b*), Arch. Int. Med. **62**, 853—871 — Dienst, R. B., Arch. Dermat. & Syph. **37**, 461—464 — Dósa, A. (1938*a*), Arch. f. Dermat. u. Syph. **176**, 742—746 — Dósa, A. (1938*b*), Dermat. Wchschr. **107**, 894—897.

Ebeling, R., Arch. f. Mikrobiol. **9**, 1—19 — Ebert, M. H., Arch. Dermat. & Syph. **37**, 711—712 — Ebstein, E., Arch. Dermat. & Syph. **38**, 752—755 — Epstein, St., J. Investig. Dermat. **1**, 141—168 — Epstein, N. N. & E. A. Levin, Urol. & Cutan. Rev. **42**, 515—517.

Fang, H. C., Chinese M. J. **54**, 448—454 — Farness, O. J., Southwestern Med. **22**, 41—43 — Farquharson, J., J. Am. Vet. M.A. **91**, 551—554 — Ferrando, M. & A. Ceruti, Gior. di batteriol. e immunol. **21**, 393—400 — Da Fonseca, Bruxelles-méd. April, 16, 1938 — Fontana, A., Gior. ital. di dermat. e sif. **79**, 19—30 — Fraser, P. K. (1938*a*), Brit. M. J., 1938, **1**, 842; Fraser, P. K. (1938*b*), J. Trop. Med. **41**, 310—314 — Freund, L., Wien. med. Wchnschr. 1938, 61—64.

Gammel, J. A. & J. L. Work, Arch. Dermat. & Syph. **38**, 756—772 — Garzon, R., Rev. argent. de dermato-sif. **22**, 99—123 — Geiseler, R., Dtsch. Zahn-Mund-Kieferhkd. **5**, 866—868 — Gibson, A. G., Rose-Innes, R. H., & Joan Gibson, Brit. M. J. 1938, **1**, 612 — Gill, W. D., (1938*a*) South. M. J. **31**, 678—685; Gill, W. D., (1938*b*) Ann. Otol. Rhin. & Laryng. **47**, 189—195 — Glauberson, S. A. & E. S. Blindman, Vestn. Venerol. i Dermat. No. 1, 50—54 — Glikina, J. K., Vestnik röntgen. i radiol. **21**, 113—118 — Godal, J., Bull. Soc. path. exot., **31**, 337—339 — Göhring, G., Arch. f. Dermat. u. Syph., **176**, 558—569 — Gohar, N., J. Trop. Med. **41**, 229—234 — Gomes, J. M., Arch. Dermat. & Syph. **38**, 12—18 — Gougerot, H., Arch. dermato-syphiligr. (Hôpital St. Louis) no. 39, 295—340, 1938 — Gougerot, H. & A. Patte, Bull. Soc. franç. de dermat. et syph. **45**, 3; 416—417 — Goyal, R. K., Indian J. M. Research **25**, 843—846 — Grigoraki, L., Compt. rend. Soc. de biol. **128**, 887—888 — Grigoraki, L. & David, R. (1938*a*) Compt. rend. Soc. de biol. **128**, 889; Grigoraki, L. & David, R. (1938*b*), Compt. rend. Soc. de biol. **129**, 647 — Greco, N. V., Fernandez, A. A. & Bigatti, A., Semana méd. 1938, **1**, 979—983 — Guard, W. F., J. Am. Vet. M. A., September, 1938.

Hamilton, J. F., J. Trop. Med. **41**, 1 — Hanan, E. B. & Sophia Zurett, Arch. Dermat. & Syph. **37**, 947—966 — Higuti, K. (1938*a*), Jap. J. Dermat. & Urol. **43**, no. 3 — Higuti, K. (1938*b*), Jap. J. Dermat. & Urol. **43**, 112—113 — Higuti, K. (1938*c*), Hihu-to-Hitunyo (Hukuoka) **6**, 19—26 — Higuti, K. (1938*d*), Hukuoka Acta med. **31**, no. 1 — Hisasi, Turu, Hukuoka, Acta Med. **31**, no. 1 — Hoffmann, Erich, Klin. Wchnschr. **17**, 1622—1623 and Dermat. Ztschr. **78**, 379—389 — Hopkins, J. G., Pennsylvania M. J. March, 1938.

Imai, K., Hihu-to-Hitunyo (Hukuoka) **6**, 27—32 — Itkin, M. M., Vestnik Venerol. i Dermat. no. 2,10—18, 1938.

Jacobson, H. P. (1938*a*), Arch. Dermat. & Syph. **38**, 38—48 — Jacobson, H. P. (1938*b*) Arch. Dermat. & Syph. **38**, 484—485 — Jakl, J., Zverolek. obz. 1938, 221 — Jansen, E., Nederl. tijdschr. v. geneesk. 1938, 2467—2469 — Jausion & Giard, Bull. Soc. franç. de dermat. et syph. **45**, 619—623 — Jausion, Hyronimus & Kouchner, Bull. et

mém. Soc. méd. d. hôp. de Paris. III. s. **54**, 953—962 — Jones, Cl. P. & D. S. Martin, Am J. Obst. & Gynec. **35**, 98 — Joyeux, Ch. & J. Sautet, Bull. Soc. franç. de dermat. et syph. **45**, 1038—1040.

Kambayashi, T., Jap. J. Dermat. & Urol. **44**, 108 — Keiper, Th. W. (1938*a*), Am. J. M. Technol. **4**, 175—181 — Keiper, Th. W. (1938*b*), J. Lab. & Clin. Med. **23**, 343—354 — Keller, H., München. tierärztl. Wchnschr. 1937, 493—494 — Kelly, H. T., Pennsylvania M. J. April, 1938 — Kessel, J. F. & Goolden, E. B., Am. J. Trop. Med. **18**, 689—699 — Kile, R. L. & Engman, M. F., Arch. Dermat. & Syph. **37**, 616—626 — Kimball, Gr. C., J. Bact. **35**, 109—122 — Kirchenbauer, Ztschr. Vet. kde. **50**, 18—29 — Kissmeyer, A. Ugesk. f. laeger. 1938, 439—440 — Kuhn, Fr., Zentralbl. f. Bakt. Orig. II, **98**, 430—444 — Kurotchkin, T. J., China M. J. Suppl. **2**, 331—335.

Lack, A. R., Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. **38**, 907—909 — de Lamater, E. D. & Rhoda W. Benham, J. Investig. Dermat. **1**, 457—467 — Lane, C. G., & Crawford, G. M., Arch. Dermat. & Syph. **37**, 62—69 — Langeron, M. & P. Guerra, Ann. de parasitol. **16**, 36—48; 162—179; 429—476; 481—525 — Lentze, Fr. A., (1938*a*), München. med. Wchnschr. 1938, 1826—1829 — Lentze, Fr. A., (1938*b*), Deutsche Zahn- usw. Heilk. **5**, 575—578 — Lentze, Fr. A., (1938*c*), Zentralbl. f. Bakt. Orig. I. **141**, 21—36 — Levitan, W., Vestnik Venerol. i Dermat. no. 4, 3—10 — Lewis, G. M. (1938*a*), Arch. Dermat. & Syph. **38**, 109 — Lewis, G. M. (1938*b*), Arch. Dermat. & Syph. **37**, 1090 — Lewis, G. M., (1938*c*), Arch. Dermat. & Syph. **37**, 907—908 — Lewis, G. M., McKee, G. M., Hopper, M. E., Arch. Dermat. & Syph. **38**, 713—726 — Lewis, G. M., Montgomery, R. M., & Hopper, M. E., Arch. Dermat. & Syph. **37**, 823—839 — Lippelt, H., München, med. Wchnschr. no. 20, 774, 1938 — Loewenthal, L. J. A., J. Trop. Med. December 15, 1937 & January 15, 1938 — Lombardo, C., Atti Soc. ital. di dermat. e Sif. 225—228, 1937 — Lomholt, S., Med. Klin. 1938, 118—119.

McKee, G. M., Lewis, G. M., Spence, M. J., & Hopper, M. E., J. Investig. Dermat. **1**, 131—139 — Manca Pastorino, V., Gior. ital. di dermat. e sif. **79**. 967—992 — Marcussen, P. V., Arch. f. Dermat. u. Syph. **177**, 87—90 — Martin, D. S., Am. J. Trop. Med. **18**, 421—426 — Marquardt, Ch. R., Urol. & Cutan. Rev. **42**, 818—819 — Masini, M., Soc. méd. chir. Marseille, quoted in Presse méd. 1938, 637 — Meledy, J. A., Mil. Surgeon **83**, 250—251 — Memmesheimer, A. M. (1938*a*), Ztschr. f. ärztl. Fortbildg. 1938, 438—440 — Memmesheimer, A. M., (1938*b*) Klin. Wchnschr. 1938, 56—57 — Miller, H. E., Arch. Dermat. & Syph. **38**, 499—500 — Milochevitch, S. & Eckersdorf, V., Compt. rend. Soc. de biol. **127**, 1369 — Montgomery, R. M., Hopper, M. E., & Lewis, G. M., Arch. Dermat. & Syph. **38**, 856—858 — Mood, G. McF., Am. J. Trop. Med. **18**, 703—714 — Moore, M., (1938*a*), Arch. Dermat. & Syph. **38**, 163—190 — Moore, M., (1938*b*), Brit. J. Dermat. **50**, 659—661 — Moore, M., (1938*c*), Arch. Dermat. & Syph. **37**, 967—969 — Moore, M., (1938*d*), Arch. Dermat. & Syph. **38**, 249—250 — Moore, M., (1938*e*), Brit. J. Dermat. **50**, 653—656 — Morikawa, T., Arch. f. Dermat. u. Syph., **176**, 265—281 — Morrison, D. B., Humphrey, A. A., & Baily, J. E., J.A.M.A. **110**, 1552 — Mossige, Kj., Acta dermato-venereol. **19**, 209—219 — Mosto, D., Ann. Fac. de med. de Montevideo **23**, 585—596 — Mumme, C., München. med. Wchnschr. 1938, 774 — Mumme, C. & Lippelt, H., (1938*a*), Ztschr. f. klin. Med. **135**, 187—197 — Mumme, C. & Lippelt, H., (1938*b*), Zentralbl. f. inn. Med. 59, 131—133 — Mülhens, K. J., Zentralbl. f. Bakt. (Abt. 1) **142**, 160—165.

Negroni, P., (1938*a*), Folia biolog. Buenos Aires, no. 79, 80, 81, 82, 346, (1937—1938) — Negroni, P., (1938*b*), Folia biolog. Buenos Aires, no. 83, 84, 85, 86, 358—359, (1938) — Negroni, P., (1938*c*) Folia biolog. Buenos Aires no. 79, 80, 81, 82, 344—345, (1937—1938) — Negroni, P., y Bonfiglioli, H., Folia biolog. Buenos Aires no. 79, 80, 81, 82, 351—352, (1937—1938) — Negroni, P. (1938*d*), R. argent. de dermato-sif. **22**, 556—561 — Neuber, E., Wien. klin. Wchnschr. 1938, I, 12—17 & 48—50 — Netherton, E. W. & Curtis, G. H., Arch. Dermat. & Syph. **38**, 131—132 — Nicolas, J., Rousset, J. & Racouchot, J., Bull. Soc. franç. de dermat. et syph. **45**, 500—501 — Niizawa, Shin, J. Orient. Med. **28**, no. 6 — Novy jr., F. G., Arch. Dermat. & Syph. **38**, 500—501.

Obrtel, J. (1938*a*), Zverol. Obz. 1938, 2 — Obrtel, J. (1938*b*), Ceskà Dermat. **18**, 194—198 — Ørskov, J., Zentralbl. Bakt. Orig. II. **98**, 344—357 — Okunj, A. S., Med. Parasitol. **7**, 590—595.

Pardo Castello, V., Rev. argent. de Dermato-sif. **22**, 255—264 — Peck, S. M. & Rosenfeld, H., J. Investigat. Dermat. **1**, 238—265 — Petzetakis, M., Presse méd. 1938, II, 1879—1880 — Pignot, M., Rabut, R., & Rivalier, E., Presse méd. 1938, 345—347 —

Polano, M. K., Nederl. tijdschr. v. geneesk. 1938, 2114—2115 — Popoff, I. & Z. Antimonowa, Vestnik Venerol. i Dermat. no. 6, 32—39 — Potachnik, M. B., Vestnik Venerol. i Dermat. no. 2 ,19—26 — Prehn, D. T., J.A.M.A. **111**, 685 — Prokoptchouk, A., Vestnik Venerol. i Dermat. no. 3, 21—27.

Rackemann, Fr. M., Randolph, Th. G. & Guba, E. F., J. Allergy, **9**, 447—453 — Rickert, Berlin. tierärztl. Wchnschr. 1938, 309 — Rivelloni, G., Il Dermosifilogr. **13**, 563—572.

Saenz, B., Triana, J. Gr., & Alfonso, J., Arch. de Med. Int. **4**, no. 1, 1938 — Schmidt, P. W. (1938*a*), Med. Welt, 1938, no. 32 — Schmidt, P. W. (1938*b*), Arch. f. Dermat. u. Syph. **177**, 244—246 — Schmidt-Lange, W. & Bucherer, H., Arch. f. Hyg. **120**, 304—308 — Schonwald, Ph., J. Allergy **9**, 175 — Schuermann, H. (1938*a*), Deutsche med. Wchnschr. 1938, 1477—1478 — Schuermann, H. (1938*b*), Dermat. Wchschr. **106**, 461—471, 497—502 — Schultz, R. W., Arch. Pediat. **10**, 283—291 — Sgalitzer, G., Wien. klin. Wchnschr. 1938, 75—76 — Shanks, S. C., Brit. J. Dermat. **50**, 440—450 — Skinner, C. E., J. Bact. **35**, 415—424 — Slavin, D., Vet. Record **50**, 1038 — Smith, J. Ferguson, Brit. J. Dermat. **50**, 352—357 — Spanedda, A., Gior. di batteriol. e immunol. **20**, 78—168 — Stewart, R. M. & Meyer, K. F., J. Infect. Dis. **63**, 196—205 — Szathmàry, S., Arch. f. Dermat. u. Syph. **178**, 216—224; 225—233; 269—275.

Takatsuki, Y., Jap. J. Dermat. & Urol. **43**, 126—136 — Tolmach, J. A. & Traub, E. F., Arch. Dermat. & Syph. **38**, 925—929 — Tomita, M. and Yamanauchi, Gen., Jap. J. Dermat. & Urol. **43**, 62 — Traeger, H., Tierärztl. Rundschau 1938, 704—705 — Tunnicliff, E. A., J. Infect. Dis. **63**, 113—116.

Venturi, T., Il Dermosifilogr. **13**, 450—466 — Verebély, T., Presse méd. 1938, 989—992 — Versari, A., Arch. ital. di med. sper. **2**, 121—128.

Walker, A. J., Ann. Trop. Med. **32**, 231—241 — Walker, O., Lancet 1938, I, 1219—1220 — Wassmund, M. (1938*a*), Deutsche Zahn-usw. Heilk. **5**, 579—595; Wassmund, M. (1938*b*), Deutsche med. Wchnschr. 1938, II, 1316—1320 — Wassmund. M. (1938*c*), Deutsche Zahn- usw. Heilk. **5**, 596—613 — Welsch, M. (1938*a*), Compt. rend. Soc. de biol., **127**, 347 — Welsch, M. (1938*b*), Compt. rendu. Soc. de biol., **128**, 1172 — Welsch, M. (1938*c*), Compt. rend. Soc. de biol. **128**, 1175 — Williams, J. W. (1938*a*), Arch. Dermat. & Syph. **38**, 32—37 — Williams, J. W., (1938*b*), Arch. Dermat. & Syph. **38**, 235—240 — Williams, J. W., (1938*c*), J. Lab. & Clin. Med. **24**, 39—43 — Winge, Ö. & Lansten, O., Compt. rend. d. trav. du lab. Carlsberg, série physiol. **22**, no. 13 — Witzigmann, J., Tierärztl. Rundschau, 1937, 596—599 — Wooley, M. T., J. Lab. & Chin. Med. **23**, 553—565.

Zenin, A. S., Vestnik Venerol. i Dermat. no. 2, 5—9.

Trichophyton mentagrophytes (Pinoyella simii) isolated from Dermatophytosis in the Monkey

by

C. W. Emmons

Senior Mycologist

(*Division of Infectious Diseases, National Institute of Health, U.S. Public Health Service, Washington, D.C.*)

With plates XXX and XXXI.

(1.XI.1939.)

The purpose of this paper is to report the isolation, from the monkey, of an interesting dermatophyte virulent for man[1]); and to correct a false interpretation of its morphology, typical of those which have unnecessarily confused the classification of the medical fungi.

Few reports of dermatophytosis in the monkey appear in the literature. Pinoy (1912) isolated and described, under the name *Epidermophyton simii*, a species of *Trichophyton* causing ringworm in this animal. Castellani and Chalmers (1919) created for this fungus the genus *Pinoyella*. Conant (1937) described as a new species, *Microsporum simiae*, which was isolated by the author in an epidemic of dermatophytosis in a laboratory colony of monkeys.

The fungus to be discussed here (strain # 594) is identical, so far as one can tell from his photographs and description, with the strain described by Pinoy as *E. simii*. It was isolated from a monkey (*Macacus rhesus*) in a shipment newly received at the laboratory. Accidental infection of the men handling these monkeys was not observed, but virulence of the fungus for man was readily proved by experimental inoculation after the fungus had been kept in culture for eighteen months. Virulence for the monkey and for the guinea pig had not diminished noticeably during this period.

Two of the infected monkeys were carefully examined. They had similar lesions and from one of them, the fungus was isolated. A typical lesion appeared on the outer aspect of the dorsum of the right hand just back of the fingers. The surface of the lesion was covered with thin silvery scales and it bled when these were removed. There was inflammation, particularly at the border of the lesion, which was slightly elevated. Growth of hair in this region was normally sparse, and there was further partial alopecia.

After the fungus had been isolated in pure culture, a monkey was experimentally infected by rubbing some of the culture into the eyebrow above the outer canthus of the eye, and on the dorsum of the hand. Ten days after inoculation, superficial lesions covered with thin silvery scales were present at these sites. Some hair follicles were involved and hyphae and arthrospores were found surrounding some hairs, but no invasion of the hair craft was observed. After seventeen days, lesions at both sites had increased to a diameter of about 1.5 cm.; there was some infiltration, especially at the border, and the lesions were covered with thin scales. Examination under filtered ultra-

---

[1]) I am indebted to Dr. Charles Armstrong for this material.

violet showed slight fluorescence. A scanty sheath of hyphae and arthrospores surrounded the lower portions of some of the hairs taken from the lesion.

In infected guinea pigs, severe lesions developed within two weeks. An ulcerated area at the center of a lesion was surrounded by an erythematous elevated zone indicating the active, advancing border of the lesion. Hairs showed both „ectothrix" and „endothrix" types of invasion. The experimental infection was cured by the application of tincture of iodine.

It is apparent that the fungus was incorrectly placed by PINOY in the genus *Epidermophyton*. Since it attacks the hair, it can not be placed in that genus, according to SABOURAUD's classification, and according to a natural morphological classification, it also is excluded from that group. It is, on the other hand, clearly a species of *Trichophyton*, as will be pointed out below, and it can be placed within the variable species, *T. mentagrophytes* (*T. gypseum*).

The dermatophyte was readily isolated from the original monkey and from a monkey and guinea pigs experimentally infected. In pure culture, it grows rapidly. PETRI dish colonies on honey agar (commercial honey and old FAIRCHILD's peptone) incubated at 30° C. reach a diameter of 5 cm. in one week (8 cm. in 10 days) (Plate XXX, figs. 1, 2). The colony is flat and rather thin. The mycelium at the center is about one mm. thick, with deeper tufts of hyphae appearing in old cultures, and it decreases in thickness and density toward the periphery. The surface of the seven day old colony in a central area with a radius of 15 mm. is powdery, due to the presence of many spores, and is cream colored. Outside this is a zone 5 mm. wide of white mycelium bearing fewer spores. The pigmented substrate mycelium can be seen through the outer edge of this zone. The remaining peripheral zone of about 5 mm. radius is thin and there are few spores. The reverse side of the colony shows a dull reddish brown pigmented area about 43 mm. in diameter; the peripheral zone contains little or no pigment. As in many of the dermatophytes, a strong ammoniacal odor is apparent when the culture is exposed.

Microscopically the fungus differs from most strains of *Trichophyton mentagrophytes* only in the production of enormous numbers of large marcroconidia (fuseaux) (Plate XXXI, fig. 1). Morphologically, except for somewhat greater dimensions, these are typical of the macroconidia of the genus (EMMONS 1934).

The typical *Trichophyton* macroconidium, is clavate with a truncated base marking the point of attachment, and is partitioned by as many as six or seven cross septa, the number of septa varying within narrower limits for each strain and depending in some degree upon the condition of the culture (Plate XXXI, fig. 6). The number commonly varies between one and four in most strains. The cross septa are thinner than the outer walls, but they completely partition the spore, except, possibly for the very small intercommunicating pores which are commonly present in many plant cells. As the spore grows, the component cells become turgid and bulge. The cross wall is not sufficiently elastic to permit increase in the diameter of the spore at this point, and as a result many mature macroconidia are constricted at the cross walls. This gives, at first glance, the appearance of a ring, as PINOY noted. The wall is complete, however, and not merely a ring.

The macroconidia of this strain vary widely in size (6—10 × 40—70 μ). Exceptionally these limits are exceeded. The outer wall is perceptibly thickened, but it is not so thick as in *Microsporum* and *Epidermophyton*. The number of cross walls is usually 4—7, but exceptional spores may have fewer or more. The number of septa is somewhat larger than in the macroconidia of most strains of *Trichophyton* (Plate XXXI, figs. 1—8).

The macroconidia of this strain are distinctive, then, only because of their numbers and size, and the unusual number of septa. In view of the variability of this character, observed when many strains are studied and in a given strain when observed over long periods (EMMONS 1934), it is apparent that this is not a suitable character for specific, much less for generic, separation. The fungus is clearly a species of *Trichophyton* and it falls within the limits of the variable species, *T. mentagrophytes*.

The conidia (aleuries) are entirely typical of *T. mentagrophytes*. The are 1.5—2 ×

Fig. 1. *Trichophyton mentagrophytes*, strain 594. Seven day culture at 30° C. on honey agar.

Fig. 2. *Trichophyton mentagrophytes*, strain 594. Ten day culture at 30° C. on honey agar.

Fig. 1. Conidia and macroconidia of strain from monkey. × 210.
.. 2. Same as #1. × 430.
.. 3. Three normal and one abnormal macroconidia. In latter, alternate cells are dead and empty.
,, 4. Two abnormal macroconidia in which the tip cells, still attached to the side walls of the adjacent dead cells might be mistaken for escaping spores.
,, 5 and 6. Terminal cells of macroconidia, one still attached, the other free. Note annulus.
,, 7. An intercalary cell of a broken macroconidium with annulus at each end.
,, 8. Intimate relationship between conidia and macroconidia.

2—5 μ in size, subspherical to egg-shaped (occasionally clavate), and they present the truncated base of the typical dermatophyte conidium (Plate XXXI, figs. 2, 7).

PINOY stated that in the strain he studied many of the fuseaux (macroconidia) were abortive. Imperfect macroconidia with one or more dead and empty cells, precisely like those he described and photographed, are also to be found in strain 594. PINOY spoke of the surviving cells in such a macroconidium as endospores, and believed they were discharged at maturity. DODGE (1935), accepting this interpretation, concluded that either the conidia or the macroconidia were asci. A different interpretation is more compatible with our knowledge of the morphology of dermatophyte spores.

Even in normal macroconidia, some of the septa may be displaced by differential pressure within adjacent cells so as to present convex and concave surfaces, and these bulging walls are particularly apparent in imperfect macroconidia, which are broken or possess one or more dead and empty cells. During the development of the spore, and in some old spores, one or more cells may be injured and the protoplast degenerates. In some strains, therefore, one finds many macroconidia which are broken, and many with one or more dead and empty cells (Plate XXXI, figs. 3—5, and PINOY's figs. 1, 5). The cross walls adjacent to the dead cell bulge into it in characteristic fashion. If it happens that the end cell dies, and the broken wall is displaced while mounting the material for examination, or if one or more of the terminal cells is broken off, the thin bulging cross wall of the adjacent cell may extend beyond the thicker side wall (Plate XXXI, fig. 5) and suggest an escaping spore. Actually, it is not freed unless there is further disintegration of the multicellular spore, and it is never discharged as an endospore nor as an ascospore.

Many fragments of macroconidia can be found and are readily identified as such in material taken from an old culture or from a strain of this fungus which is partially „pleomorphic." If the fragment consists of the tip cell, it has shape of a cone with rounded tip and convex base. Around the periphery of the base, an annulus composed of remnants of the side walls of the adjacent dead cell is visible (Plate XXXI, figs. 5, 6). If the spore fragment consists of an intercalary cell, it is barrel-shaped and an annulus can usually be seen around the periphery of each of the convex ends of the cell (Plate XXXI, fig. 7). This annulus, which is merely a remnant of that part of the external spore wall which originally enclosed the cell or cells adjacent to the fragment under discussion, and the shape of this fragment, indicate plainly that it is one cell of a broken spore, and not an endospore or ascospore. This is a fundamental distinction of primary importance. This phenomenon occurs also in other strains of *Trichophyton* and there is no justification, either for creating a new genus for this strain or for the assunption that the spore fragment is an ascospore.

Summary

A strain of *Trichophyton mentagrophytes*, [*E. simii*, Pinoy 1912; *Pinoyella simii* (Pinoy) Castellani and Chalmers, 1919], virulent for man, was isolated from a monkey. This fungus is a typical species of *Trichophyton*, and the report of ascospore production in a strain of similar origin was apparently based upon a misinterpretation of the macroconidia.

Literature References

Pinoy, E., Bull. Soc. Path. Exotique, **5**, 60—63, (1912). — Castellani, A. and Chalmers, A. J., Manual of Tropical Medicine, p. 1023, (1919). — Conant, N. F., Arch. Derm. and Syph. **36**, 781—808, (1937). — Emmons, C. W., Arch. Derm. and Syph. **30**, 337—362, (1934). — Dodge, C. W., Medical Mycology. C.V. Mosby Co.. pp. 476—477, (1935).

Fumigation of mite infested cultures of Fungi

by

C. W. Emmons
Senior Mycologist

(*Division of Infectious Diseases, National Institute of Health, U.S. Public Health Service, Washington, D.C.*)

(1.XI.1939.)

Mite infestation of cultures of fungi and bacteria is probably of more common occurrence than is generally realized. In a recent paper, Pease (1937) calls attention to this and suggests methods of controlling mites and insects in the culture laboratory. It may be worthwhile to record briefly the successful use of an acaricide, not mentioned by her, which was recommended by Puntoni in 1931, but which apparently has not been widely used.

There is always danger of mite infestation in any laboratory into which plant and animal material is routinely brought for examination and culture, or if cultures are received from other laboratories. If an infested culture is brought into the laboratory, the mites, which can penetrate cotton plugs, pass from culture to culture mixing and contaminating many strains. If their presence is not recognized they will cause loss of valuable stock cultures, and if they introduce a succession of microorganisms in supposedly pure cultures, they may lead to errors in interpretation.

Mites can hardly be seen without a good lens, although the experienced mycologist can usually detect, by the appearance of the fungous colonies, those in which they have been feeding. Under a magnification of five to ten diameters, they can be seen moving slowly about, and even if only a few are present, their trails, consisting of two parallel rows of prints, usually marked by bacterial colonies, are often conspiciously visible upon the agar surface. Mites select some species of fungi in preference to others. but they may enter any culture, often contaminating it with more vigorously growing microorganisms from which it can be reisolated with difficulty if at all.

Thom (1930) described the difficulties arising from the presence of mites in stock cultures and recommended that stoppers be poisoned with a formula such as: 95 per cent alcohol 95 parts, bichloride of mercury $^1/_2$ part, and glycerine 5 parts, colored with any of the analine dyes.

Pease (1937) recommended the use of poisons and insecticides to exclude from the laboratory insects which can carry mites and which sometimes invade cultures; the use of a disinfectant such as liquor cresolis compositus for washing tables and shelves and isolating shelves from floors; and a four hour exposure of test tube cultures to para-dichlorbenzene.

Puntoni (1931) freed cultures of an infestation of *Tarsonemus floricolus* by dipping cotton stoppers of infested tube cultures in „benzine rectifiee" and advised using cotton stoppers previously moistened with „petrole" and dried in sun and air to prevent subsequent entrance of mites. Jewson and Tattersfield exposed infested cultures to the vapors of pyridine which is slightly toxic for fungi.

A culture received at this laboratory was found to contain mites, and since it was desired to save the strain of fungus, and contamination by other fungi had not occurred,

the mites were killed by the following treatment. The cotton stopper of the tube was partially withdrawn and benzin (petroleum ether, b.p. 30°—75°C) was forced into its lower part from a pipette. This is a convenient method of application, and there is less danger of contaminating the culture with air-borne spores of other fungi than if the stopper is withdrawn and dipped in benzin. The quantity of benzin applied should be such that it does not run down onto the fungus. The infested tube was isolated from others until it was apparent that the mites were dead.

One application of benzin was sufficient in this case to kill all the mites. The fungus, on the contrary, was not destroyed. The effect of benzin vapor upon the viability of several other fungi was tested. In no case were the fungi killed, but the test was not made for all our stock cultures. In this laboratory, although the occurrence of mites has been noted only this one time, stoppers of all cultures which are to be kept at room temperature for a considerable length of time are routinely poisoned with the bichloride of mercury formula given above.

Literature references

Pease, Dorothy, Jour. Bact., **33**, 619—624, (1937) — Puntoni, V., Ann. de Parasitol. **9**, 359—362, (1931) — Thom. C., The Penicillia. Williams and Wilkins Co., (1930) — Jewson, Sybil T. and F. Tattersfield, Ann. of Appl. Biol., **9**, 213—240, (1922).

Blastomycosis, Sporotrichosis and Coccidioidal Granuloma on Animals and Plants [1])

by

P. Redaelli, R. Ciferri and E. Baldacci.

(*From the Istituto di Anatomia patologica, University of Pavia, Istituto botanico of the Agraric. Faculty, University of Firenze and R. Laboratorio Crittogamico Italiano, Pavia*)

(20.XI.1939.)

Introduction

Our knowledges on comparative mycopathology are yet very poors. Without taking in consideration a few casual observations, some experiments were performed by Benham and Kesten (1) on species of the genus *Sporotrichum*. *S. Beurmanni* Matr. et Ram., the causative agent of human and animal sporotrichosis, has been found pathogenic to carnation buds, with 95 per cent of positive results when inoculated through wounds, and causing bud rot. *S. Councilmanni* Wolb., Siss. and Meyer and *S. Gougeroti* Matr. were found to be experimentally pathogenic to the same plant species, through wounds, with 61 and 50 per cent of positive results. The induced bud rot of carnation was found to be indistinguishable from the same disease naturally produced by *S. poae* Peck. On the contrary, *S. poae* has been demonstrated unpathogenic for rats, and a species isolated from soil, *S. pruinosum* Thom., moderately pathogenic the same animals.

The results above quoted are, in no doubt, in relation to the diffusion in nature of the species of the genus *Sporotrichum*, as adscertained by Gougerot (2) on horsetail, oat seed, and bark of beech tree, and by Sartory (3) on wheat glumes. In addition, the same species were found as occasional host on wasps, ants, flies, on mammal organs, etc.

The same considerations must be found in relation to other fungi found on different organic and living substrata, as, e.g., for *Sporendonema epizoum* (Corda) Cif. and Red.; see Ciferri and Redaelli (4).

Of course, in the case of positive results as adscertained through wound inoculation, the distinction between weak parasitism and saprophytism is evanescent, and, in most cases, nutritional capacity of the substratum is a better expression than the definition in terms of parasitism. The demonstration has been furnished by the experiments of Ciferri and Baldacci (5) inoculating to tomato fruits a collection of fungi parasitic of man and animals. Positive results were obtained with inoculation through wounds of *Coccidioides immitis* Stiles, *Mucor racemosus* Fries, *Debaryomyces Fabryi* Ota, *Hansenula anomala* (Hans.) Syd., *Geotrichum candidum* Link var. *parasiticum* Pr. and P., *Fusarium Moronei* Curzi, *Sporendonema epizoum* (Corda) Cif. et Red., *Acrostalagmus cinnabarinus* Corda, *Beauveria Bassiana* (Bals. Criv.) Vuill., *Cephalosporium acremonium* Corda, *C. Gruetzi* Bened., *C. cerebriformis* Bened., *Microsporum Auduini* Gruby, *Scopulariopsis brevicaulis* (Sacc.) Thom., *Sporotrichum Councilmanni* Wolb. Siss. et Meyer, *S. Gougeroti* Matr., *Trichophyton roseum* Bodin, and *Trichosporon Ashii* Ota.

As related to coccidioidal granuloma, no comparative observations are found

[1]) Prepared for the Third International Congress for Microbiology, New York, 1939. Section VI.

on literature; a comparison between the behaviour of *Coccidioides immitis, Rhinosporidium Seeberi,* etc. on man and animals with Phycomycetes on plants is, evidently, of no value. The same observations must be made relating man and animal blastomycosis with the peculiar yeast diseases on plants named „stigmatomycosis" and produced by the yeasts of the genera *Nematospora, Ashbya, Spermophthora,* and so on.

Having no found systematic essays of inoculation with the same pathogens to plant and animal livings, we performed some experiments on this subject.

Cross inoculation and experimental data.

The comparative pathogenicity of a few selected fungi has been tested on the same hosts, under standardized conditions. As representative human pathogens were selected:

1) *Coccidioides immitis* Stiles in Rixf. et Gilchr., the causative agent of coccidioidal granuloma; *Paracoccidioides brasiliensis* (Splendore) Almeida, causative agent of paracoccidioidal granuloma; *Gilchristia dermatitidis* (Gilchr. et Stok.) Cif. et Red., causative agent of North American dermatis verrucosa mycotica or Gilchrist's disease; *Phialophora verrucosa* Thaxter, one of the agents of dermatitis verrucosa chromomycosica (Chromomycosis) and *Sporotrichum Beurmanni.* As representative of lower animal pathogens were tested: *Beauveria Bassiana* (Bals. Criv.) Vuill., the causative agent of „calcino" (chalk) of silkworm; *Pericystis apis* Maassen e *Pericystis alvei* Betts, the causative agent of a disease of bee. As representative of fungi pathogenic to plants were selected: *Ashbya gossypii* (Ashby) Guillierm. agent of boll rot of cotton and other plant rots; *Nematospora coryli* Peglion, agent of dry rot of hazel nuts, but found as pathogenic on other species; *Nematospora phaseoli* Wing., pathogenic to beans and many other species; *Botrytis cinerea* Pers., the common ubiquitarious parasitic mold of most cultivated plants; *Gloeosporium cyclaminis* Sibilia, pathogenic to cyclamens.

The results are summarized in the prospect of the page 324 [1]):

From our experiments, as well as for the experiments performed by other students (at least for the fungi studied), the specificity of most pathogens for man and superior animal, for lower animals and plants is very high. The specialization, as well known, is frequently limited to the species, rarely to the genus or to the family; very rarely (and in the case of pathogens not producing specific diseases) to higher taxonomic groups. Broadly speaking, each kingdom of livings, anatomycally, physiologically, for the natural hystogenic and humoral immunity (if any), for adquired immunity, and so on, are so distincts that no common base of comparison and no theoretical consideration are possible. The criteria of the specialization of parasitism amongst groups of living are so deeply different, for activities of pathogens as well as for reaction of hosts, that building up a true comparative mycopathology, at least to day and for the groups investigated, is not possible.

Nevertheless, we are in condition to classify the parasites of man and superior animals, of lower animals and of plants according the criteria of biological activity of the pathogens and on the base of peculiar alterations and reactions of tissues, important also in regard to the taxonomy of parasites.

Classification based on the parasite properties and reproductory activities in relation to the substrata of life („in vivo" *and* „in vitro")

(for man and higher animals):

a) absolute parasitic pathogenic fungi:

[1]) Details on technic and results are to be published later on.

Man and domestic animals	Lower animals	Plants
Coccidioides immitis man +++, cattle and other domestic animals +++, laboratory animals +++	frog —°, bee moth (*Galleria mellonella*) —	broad bean —, castor oil plant —
Paracoccidioides brasiliensis man +++, domestic animals ?, laboratory animals +	frog —, bee moth —	broad bean —, castor oil plant —
Gilchristia dermatitidis man +++, domestic animals ?, laboratory animals ++	frog —, bee moth —	broad been —, castor oil plant —
Phialophora verrucosa man +++, domestic animals ?, laboratory animals +	frog —°, bee moth —	broad bean —, castor oil plant —
Sporotrichum Beurmanni man +++, domestic animals +++, laboratory animals +++	frog —°, bee moth —	broad bean —, castor oil plant —
man —, domestic animals —, laboratory animals —	*Beauveria Bassiana* silkworm +++, other insects +++, frog —°, bee moth —	broad bean —, castor oil plant —
laboratory animals —	*Pericystis apis* bee +++, other insects ?, frog —, bee moth —	broad bean —, castor oil plant —
laboratory animals —	*Pericystis alvei* bee +++, other insects ?, frog —, bee moth —	broad bean —, castor oil plant —
laboratory animals —	? ? ?	*Ashbya gossypii* certain plants +++
laboratory animals —	? ? ?	*Nematospora coryli* certain plants +++
laboratory animals —	? ? ?	*Nematospora phaseoli* certain plants +++
laboratory animals —	? ? ?	*Botrytis cinerea* certain plants +++
laboratory animals —	? ? ?	*Gleosporium cyclaminis* certain plants +++

+++ positive results on many host species with reproduction of disease typical microscopical lesions of tissues and fungus evolution.
++ positive results on one or a few host species without reproduction of the disease and reduced fungus evolution.
— negative results.
—° negative results with a strong aspecific host reaction.

observed only (up to now) in animal tissues; extratissural (natural or artificial) life unknown; the entire life or, at least, the reproductive stage, supposed to be formed only under parasitic condition.

Ex.: *Rhinosporidium Seeberi*; probably also *Indiella* species of mycetomata.

b) obliged parasitic pathogenic fungi:

1) highest stages of life (chiefly reproductive stage) found only on living animal tissues; under cultural conditions on laboratory media only more or less degradated vegetative stages, of life.
   Ex.: *Coccidioides immitis, Paracoccidioides brasiliensis*, ecc., probably also most of Dermatophytae.
2) highest stages of life (chiefly reproductive stage) found on living animal tissues as well as under cultural conditions on laboratory media, but only under cultural conditions approaching those found on animal tissues. On routine laboratory culture only degradated forms, mostly vegetative.
   Ex.: *Histoplasma, Gilchristia*, and many other genera and species of fungi; also Coccidioidaceae.
3) parasitic stages of fungi found in animal tissues different from those found in cultural laboratory media, both forms having a signification up to now unknown; in culture perfect or degradated stages.
   Ex.: *Actinomyces* with „clubs" formation; probably also the parasitic „grains" of *Madurella*.

c) occasional or exceptional parasitic pathogenic fungi: highest reproductive stages only in culture on laboratory or on natural media; in animal living tissues producing degradated stages, probably as an expression of life on unfavorable substrata.
   Ex.: most of the common molds, e.g. Mucorales, Hyphales and Yeasts, etc.

(for lower animals)

Very little is known about parasitism and conditions of parasitization on lower animals. Most of pathogens (e.g. Laboulbeniales. Phycomycetes, etc.) are highly specialized, but not living in culture. A number of fungi (mostly Hyphales) are less evidently specialized and probably diffused in nature, also on dead substrata.

(for plants)

a) absolute parasitic pathogenic fungi:
observed only, up to now, on living plant tissues, mostly highly specialized. E.g., Uredinales or rust fungi (most); Peronosporales or mildew (most); etc.

b) obliged parasitic pathogenic fungi:
parasitic longer stages found only on living plants; saprophytic shorter stage on organic substrata. Ex. g.: smuts or Ustilaginales (most); etc.

c) occasional parasitic pathogenic fungi:
the life of pathogens is parasitic or saprophytic according the presence of host plants, the environmental conditions, the nature of substrata, etc. E.g., many Deuteromycetes; etc.

d) exceptional parasitic pathogenic fungi:
the life of fungi is, as a rule, saprophytic, and only exceptionally parasitic. E.g., many Deuteromycetes, mostly Hyphales; etc.

(The classification of the pahogens for lower animals and for plants are schematic,

as too many are the intermediary positions and possibilities of interrelations between host and parasite).

From our experiments it appears that it is impossible to build up a comparative parasitology (in absolute sense). The pathogenetic and pathological processes naturally found in man and superior animals or induced on laboratory receptive animals (blastomycosis, sporotrichosis, coccidioidal granuloma, etc.) are in no way related with the reactive processes induces by the same fungi on lower animals and plants. On lower animals and plants the inoculation of the man pathogens is followed by a circumscript, aspecific, hystogenic reaction, the results being the elimination of the fungus.

In a preliminary way, it would be possible to sketch two or three classifications including the characteristics of tissural reactions and of the diseases induced on plant and animals by the species of fungi considerated in our study; in other words, a comparison with animal and plant blastomycosis, animal and plant sporotrichosis, etc. (so far it is possible). Another comparison would be based on the pathogenese of mycose of man, animals and plants.

But, in addition to the scanty bibliographical material, by the difficulties induced by the anatomical, physiological and physiopathological structures of both kingdoms (animal and plant), no conclusions of pratical or theoretical interest would be drawn.

Most of fungi parasitic to plants and animals (including man) are so highly specialized and distinct, and so different the hosts, that also in, future the a true comparative pathology appears to be quite doubtful. The same difficulties that are found in building up a comparative parasitology and pathology, are found also for the comparative anatomy, physiology and immunology in both kingdoms.

Literature

(1) Benham and Kesten, Journ. Infect. Dis., **50**, 437, 1932 — (2) Gougerot, Les Sporotrichoses, (Paris), 1912 — (3) Sartory, C. R. Soc. Biol., **78**, 740, 1915 — (4) Redaelli e Ciferri, Atti Istit. Bot. Univ. di Pavia, **5**, 145, 1934 — (5) Ciferri e Baldacci, Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., **9**, (3) 200, 1934.

Bibliographia Mycopathologica IV.

(1939, I.)

Amolsch A. L. and Wax J. H., Histoplasmosis in infancy. Am. J. Pathol., *15*, (4), 477, (1939).

Baldacci E., Contributo alla sistematica delgi Attinomiceti. V—VIII: *Actinomyces albus*, *A. chromogenes*, *A. odorifer*, *A. thermophylus*, *A. viridis*, *A. virido-chromogenus*, *A. hominis*, *A. innominatus*. Atti Istit. Bot. Univ. Pavia, serie IV, *11*, 191—231, 13 figs. (1939).

Baldacci E., Ricerche sul potere patogeno dei miceti. I: Esperienze con la *Beauveria bassiana* (Bals. Criv.) Vuill., sul *Bombix mori*. Atti Istit. Bot. Univ. Pavia, serie IV, *11*, 154—189, (1939).

Baldacci E., Sull'*Actinomyces thermophylus* Auct. e sulla resistenza degli Attinomiceti alle alte temperature. Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., *14*, (5), 311—313, (1939).

Baldacci E., Alcune osservazioni sulla patogenicità della *Beauveria bassiana* (Bals. Criv.) Vuill. Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., *14*, (1), 52—53, (1939).

Ballagi S., Die Vaccinetherapie der Mertamycosen. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 243, (1939).

Barre M., Ueber Kombination der destruktiven mit der oberflächlichen Form der Lungenaktinomykose. Frank. Z. Pathol., *53*, (3), 401, (1939).

Bassi M., Due casi di aspergillosi polmonare ed alcune considerazioni sociali sulle micosi. La settimana medica (Palermo), *13*, 381—393, (1939).

Becker P., Ueber ein Fall von disseminierter Aktinomykose der Zunge beim Rinde. Z. Fleisch-Milschtryg., (7), 125, (1939).

Benedek T., Use and application of photography in mycology. J. of the biol. photograph Ass., (1939).

Benham R. W., *Monilia albicans*: variants and related species. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 33, (1939).

Biberstein H. H. and Glaser W., Contributions concerning the experimental oidiomycosis in guinea-pigs. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 245, (1939).

Biurge Ph. U., Graphiomycose humaine. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 206, (1939). [*Graphium ulmi*].

Bizzarri M., Agglutinazione „granulare" e „flocculare" da miceti. Pathologica, *31*, (573), 305—307, (1939). [*Cryptococcus* sp.]

Blunck H., Natürliche Feinde und biologische Bekämpfung der Maikäferengerlinge. Z. PflKrankh., *49*, (5), 338—381, 7 figs., (1939). [*Beauveria densa*]

Bøe J., Hartmann O. and Thjøtta T., A serological study of *Aspergillus fumigatus*. Acta path. microbiol., scand., *16*, (2), 178—186, (1939).

Breed R., Murray E. G. D. and Parker Hitschens, Changes in the outline of classification introduced in the fifth edition of the Bergey Manual of determinative bacteriology. Third Inter. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 3, (1939).

Brocchieri G., Su di un case di blastomicosi. Il Dermosifilografo, *14*, (1), 57—64, (1939).

Canestrelli O., Contributo allo studio delle micosi interne del cane. Il nuovo Ercolani, (4), 121, (1939). [*Actinomyces* sp.]

Capella F., Contributo allo studio della Actinomicosi. Boll. Soc. Med. chir. di Pavia, *53*, (4), 545—682, 36 figs., (1939).

Carrión A. L., The specific fungi of Chromoblastomycosis. Third Intern. Congr. Microbiol. Abstracts of communications, p. 206, (1939).

Castello V. P., Keratomycosis nigricans palmaris. Rev. argent. dermatosifil., *22*, 255—264, (1939). [*Cladosporium wernecki*]

Catanei A., Sur la flore parasitaire des trichophyties en Algérie (d'après la determination de 4000 champignons parasites). Bull. Soc. pathol. exot., *32*, (2), 117—120, (1939). [*Trichophyton glabrum, T. violaceum, T. acuminatum, T. crateriforme, T. soudanense, T. fumatum, T. pervesi, T. regulare, T. cerebriforme, T. sulfureum, T. plicatile, T. umbilicatum*]

Catanei A., Étude des teignes du cuir chevelu dans les colonies françaises. Ann. Inst. Pasteur, Algér, *17*, (1), 47-57, 1 pl., (1939).

Catanei, A. et Grenierboley J., Étude de teignes de la peau observées au Tonkin. Arch. Inst. Pasteur, Algér, *17*, (2), 282—285, (1939).

Cochet G., Sur un nouveau champignon arthrospore (*Arthrographis Langeroni*, n. g., n. sp.) agent pathogène d'une onichomycose humaine. Ann. parasit. hum. comp., *17*, (2), 97—102, 2 pl., (1939).

Conant N. F., Taxonomy of the anascosporous yeast-like Fungi. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 32, (1939).

Cook E. S., Hart M. J., and Joly R. A., The effect of 1,2,5,6-dibenzanthracene on the growth and respiration of yeasts. The Am. J. od Cancer, *35*, 543—545, (1939). [*Saccharomyces cerevisiae*].

Coons G. H., Comparison of processes in fungous infections of plants and animals. Etiology and pathogenesis: plant kingdom. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstract of communications, p. 214, (1939).

Couch J. N., Further studies on infection of scale insects by *Septobasidium*. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 217, (1939).

Cox A. J. and Smith Ch. E., Arrested pulmonary coccidioidal granuloma. Arch. of Path., *27*, (4), 717, (1939).

Curtis May, Host-parasite relations of *Ceratostomella ulmi*. Third intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 219, (1939).

Da Fonseca O., Biological traitment of dermatomycosis. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 243, (1939).

Dascazeaux J., Actions des champignons Hyphomycètes prédateurs sur les larves de certains Nématodes parasites des ruminants. Bull. soc. path. exot., *32*, (5), 457—459, (1939).

Davis D. J., Comparison of processes in fungous infections of plants and animals. Tissue reactions: animal kingdom. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 215, (1939).

De Almeida Fl. e Da Silva Lacaz C., Studi micologici sulla tricomicosi nodulare. Rev. de Biol. et Hyg., San Paulo, *9*, 135—138, (1938) [*Actinomyces tenuis*]

Deamer W. C., Allergic diseases in childhood. J. of Allergy, *10*, (6), 605—616, (1939).

Debusmann M., Ueber das Vorkommen eines seltenen Pilzes (*Cephalosporium acremonium* Co.) im Blut bei tonsillogener Sepsis. Arch. Kinderh., 116, (3), 172, (1939).

Decker J. J., Pulmonary moniliasis. New England J. Med., *220*, (15), 626—628, 3 figs., (1939).

Delamater E. D., Experimentally produced hypersensitivity and immunity to the ringworm Fungi. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 246, (1939).

DeMonbreun W. A., The dog as a natural host for *Histoplasma capsulatum*. Report of a case of Histoplasmosis in this animal. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 218, (1939).

Deschiens R., Considerazions relatives à la destruction des larves de Nématodes parasites par des Hyphomycètes prédateurs. Bull. soc. pathol. exot., *32*, (5), 459—464, (1939).

Deschiens R., Destruction de larves infectieuses de Nématodes pathogènes par des champignons prédateurs du sol. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 170, (1939).

Deschiens R., Conditions de capture des larves de Dictyocaules par des Hyphomycètes prédateurs. Bull. Soc. pathol. exot., *32*, (7), 698—700, 1 pl., (1939). [*Dactylella bembicodes, Arthrobotrys oligospora*].

Deschiens R., Capture et destruction de larves de Strongylidés du boeuf et du singe par der Hyphomycètes. Bull. soc. pathol. exot., *32*, (4), 394—398, (1939). [*Dactylella bembicodes, Arthrobotrys oligospora*]

Diamanti G., La nosografia della regione del Medio Giuba. Arch. Ital. Sci. Med. Colon. e parasit., *20*, (8), 449—503, 21 figs., (1939).

Diddens H. A. and Lodder J., On the taxonomy of the Mycotoruloideae. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 32, (1939).

Downing E. S. and Orr H., The dermatophyte *Microsporon lanosum*. Mycologia, *31*, (1), 76—92, 25 figs., 4 graphs., (1939).

Drechsler Ch., Predacious and parasitic Fungi destructive to terricolous Amoebae, shelled Rhizopods and Nematodes. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 219, (1939).

Emmons C. W., Variations of Fungi of medical importance and their significance in determinations of species. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 209, (1939).

Emmons C. W. and Hollaender A., The action of ultraviolet radiation on dermatophytes. II. Mutation induced in cultures of Dermatophytes by exposure of spores to monochromatic ultraviolet radiation. Am. J. of Botany, *27*, (7), 467—475, (1939). [*Trichophyton mentagrophytes, T. asteroides*].

Emmons C. W. and Hollaender A., The influence of monochromatic ultraviolet radiation on rate of variant production in *Trichophyton mentagrophytes*, Genetics, *24*, 70—71, Jannuary (1939).

Erikson Dagny, On the nomenclature of the anaerobic Actinomycetes. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 29, (1939).

Eroms H., Aktinomykose beim Hund. Dtsch. tierärztl. Wosch., (27), 437, (1939).

Farness O. J. and Mills Ch. W., Coccidioides infection. A case of primary infection in the lung with cavity formation and healing. Am. Rev. of Tuberc., *39*, (2), 266, (1939).

Feinberg S. M. and Bernstein T. B., Asthma and Hey fever. The J. of Allergy, *10*, (3), 283—307, (1939). [*Rhizopus, Penicillium, Trichoderma, Alternaria, Hormodendron*].

Fossati C., Fall einer durch einen Fadenpilz hervorgerufenen Pseudotuberkulose der Lunge. Zeitschr. f. Tuberk. *81*, (5), 317—324, 1 fig. (1939).

Fraser P. K., Some figures on the incidence of dermatophytosis. J. trop. med. a hyg., *42*, (10), 141—144, 2 figs. (1939). [*Trichophyton rubrum, T. interdigitale, Corethropsis hominis, Epidermophyton floccosum*].

Frosini D., Agglutinine anamnesiche da miceti. Pathologica, *31*, (576), 428—429, (1939). [*Cryptococcus uvae, C. pinoyisimilis*].

Goodman J. and Sulzberger M. B., Allergy in dermatology. A critical review of recent contributions. J. of Allergy, *10*, (5), 481—501, (1939). [*Microsporon, Trichophyton*].

Grigoraki L. et David R., Caractères biochimiques du *Microsporum canis* (Bodin 1897) Grigor. et Guiart emend. 1928. C. R. Soc. Biol., Paris, *130*, (3), 203—205, (1939).

Grigoraki L. et David R., Caractères biochimiques d'*Endodermophyton indicum* (Castellani 1911). C. R. Soc. Biol., Paris, *131*, (18), 594—596, (1939).

Grigoraki L. et David R., Caractères biochimiques de *Trichophyton lacticolor* (Sabouraud 1910), C. R. Soc. Biol., Paris, *131*, (19), 767—769, (1939).

Habibi, Étude de trois cas de *Rhinosporidium Seeberi* en Iran. Ann. parasit. hum. comp., *17*, (2), 103—107, 2 pl., (1939).

Harris L. H., The nature of the grain dusts antigen. Crossed reactions to grain dusts and smuts. J. of Allergy, *10*, (5), 433—443, 4 figs., (1939).

Harris L. H., Allergy to grain dusts and smuts. J. of Allergy, *10*, (4), 327—336, (1939). [*Alternaria, Helminthosporium, Penicillium, Hormodendrum, Aspergillus, Tilletia, Ustilago*].

Henrici A. T., Experimental trichophytid. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 244, (1939).

Henrici A. T., An endotoxin from *Aspergillus fumigatus*. J. of Immunol., *36*, (4), 319, (1939).

Henrici A. T., Experimental trichophytid in guinea pigs. Proc. of the Soc. f. exper. biol. a. med., *41*, 349—353, 2 figs., (1939).

Hesseltine H. C., The nature of Moniliasis. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications. p. 212, (1939).

Hollaender A. and Emmons C. W., Fungicidal and subletal effects of monochromatic ultraviolet radiation on the spores of Dermatophytes. Genetics, *24*, 75, January (1939). [*Trichophyton mentagrophytes*].

Hopkins J. G., Comparison of processes in fungous infections of plants and animals. Natural resistance, including immunity: animal kingdom. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 216, (1939).

Howell A. Jr., The effect of temperature and hydrogen-Jon concentration on *Histoplasma capsulatum* and similar form species. Third Intern. Congr. Microbiol. Abstracts of communications, p. 209, (1939).

Huchzermeyer K., Aktinomykose der Wirbelsäule. Bruns' Beitr., *170*, (1), 121, (1939).

Huggard H. W., Strauss M. J., and Greenberg L. A., Copper, electrically injected, cures fungous diseases. J. Am. Med. Assoc., 1 April (1939).

Itzerott D., Ein Fütterversuch an Meerschweinchen mit Maisbrandsporen. Z. Pfl-Krank., *49*, (1), 40—41, (1939).

Jannarone G., Un caso raro di actinomicosi del volto. Giorn. Ital. Dermat. Sifil., (3), 535, (1939).

Joulia P. et Le Coulant P., Les epidermomycoses généralisées de la seconde infance par champignons levuriformes. Ann. de Dermat., *10*, (7), 545, (1939).

Kalt A., Actinomicosi facciale e orbitaria. La Presse Médicale, 20 maggio, (1939).

Kambayashi T., Ueber eine aus dem menschlichen Nagel kultivierte *Endodermophyton*-Art. Bot. Mag., Tokyo, *53*, (628) 163—168, 1 fig., (1939).

Karunaratne W. A. E., Rhinosporidiosis in Ceylon, Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 207, (1939).

Kelley W. A., A study of the cell and colony variations of *Blastomyces dermatitis*. J. infect. diseases, *64*, (3), 293—296, 1 fig., (1939).

Kessel J. F., The coccidioidin skin test., Am. J. Trop. Med., *19*, (2), 199—204, (1939).

Khan H., Notes on the diseases of Trout at the Mahili hatschery-Kulu (Punjab). J. Bombay nat. hist. Soc., *40*, (4), 563—656, (1939) [*Saprolegna*].

Krassilnikov N., The structure, development and classifications of Actinomycetales. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 27, (1939).

Lange H., Ein seltener Fall von actinomykotischer Holzzunge beim Schwein. Tierärztl. Rdsch., (16), 390, (1939).

Langeron M. et Guerra P., Remarques sur le *Candida stellatoidea* (Jones et Martin 1938). Ann. paras. hum. comp., *17*, (3), 257—260, 1 pl., (1939).

Leccisotti G., Miceti come agglutinogeni (saggi di agglutinazione con due crittococchi patogeni dell'uomo). Pathologica, *31*, (572) 243—244, (1939). [*Cryptococcus uvae, Cryptococcus pinoyisimilis*].

Lepesme P., Influence de la température et de l'humidité sur la pathogénie de l'aspergillose des Acridiens. C. R. Acad. Sci., Paris, *208*, (3), 234—236, 1 graph., (1939) [*Aspergillus flavus*].

Longmire W. P. and Goodwin C. P., Generalized *Torula* infection. Case report and review with observations on pathogenesis. Johns Hopk. Hosp. Bull., *64*, (1), 22—40, 2 pl., (1939).

MacCrea A., The guinea pig as test animal in the evaluation of fungicides and fractions obtained from Fungi. Third Intern. Congr. Microbiol., p. 213, (1939).

MacKee G. M., Lewis G. M., Pinkerton M. E. and Hopper M. E., Dandruff and Seborrhea. II: Flora of the face, and further studies on the flora of the scalp. J. invest. Dermat., *2*, (1), 31—41, (1939).

MacKinnon J. E., Dissociation of yeast-like Fungi. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 31, (1939).

McMaster P. E. and Gilfillan C., Coccidioidal osteomyelitis. J. Am. Med. Ass., *112*, (13), 1233—1237, 7 figs., (1939) [*Coccidioides immitis*].

Maggi N., Di una particolare micosi del piede. Acc. Med. (Genova), (3), 239—265, 12 figs., (1939) [*Cohnistreptotrix* sp.].

Magruder G., A report of three cases of *Torula* infection of the central nervous system. J. Lab. clin. med., *24*, (5), 495—499, (1939) [*Torula histolytica*].

Maplestone P. A. and Dey N. C., A *Microsporum* new to India. Indian med. Gaz., *74*, (3), 148—151, 1 pl., 3 figs., (1939) [*M. ferrugineum*].

Martin D. S. and Smith D. T., Blastomycosis (American blastomycosis, Gilchrist's Disease) I: Review of the literature. The Am. Rev. of Tuberc. *39*, (3), 275—304, 1 pl., 3 figs., (1939). [*Blastomyces dermatitidis*].

Martin D. S. and Smith D. T., Blastomycosis (American blastomycosis, Gilchrist's Disease) II: A report of thirteen new cases. The Am. rev. of Tuberc., *39*, (4), 488—515, 5 pl., (1939). [*Blastomyces dermatitidis*].

Martin D. S., Serologic diagosis of systematic fungus diseases. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 211, (1939).

Minami S. and Hara J., Ein Fall von Sycosis trichophytica. Hitu-to-Hitunyo Hukuoka, *7*, 54—59, (1939). Abstr. in Zbl. Haut- u. Geschlecht., *62*, (5), 279—280, (1939).

Moore M., The chorio-allantoic membrane of the developing chick as a medium for the cultivation and histopatologic study of pathogenic Fungi. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 213, (1939).

Mosseray R., Variation chez divers *Aspergillus*. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 25, (1939).

Mueller G., Ueber einen Fall von Lungenaktinomykose. Med. Klin., (13), 426, (1939).

Mu J. W. and Kurotchkin T. J., Statistical and mycological studies of dermatomycoses observed in Peiping. Chin. med. J., *55*, (3), 202—219, (1939).

Mumme C. und Heine J., Generalisierte Blastomykose und Lymphogranulomatose. Münch. med. Wochschr., (28), 1102, (1939).

Naeslund C., Etiology of Actinomycosis among cattle and swine from bacteriological viewpoint. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 26, (1939).

Naeslund C., On wath grounds can a classification of *Actinomyces* and allied organisms be made? Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 26, (1939).

Negroni P., Estudio micológico del primer caso sudamericano de Histoplasmosis. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 207, (1939).

Negroni P. ,Estudio sobre los *Actinomyces* micro-aerófilos. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 29, (1939).

Negroni P., Estudio morfólogico y fisiológico de una cepa de *Monascus ruber* aislada de una salsa de tomates. Rev. Inst. Bacteriol. (D.N.H.), Buenos Aires, *8*, (4), 412—421, 2 figs., (1939).

Nicod J. L., Le *Leptotrix pleuriticus* et son role pathogène. Schweiz. med. Wochsch., (32), 733, (1939).

Ohba K., An autopsy-case of pneumomycosis aspergillina. (Jap.) Trans. jap. path. Soc., *29*, 86, (1939).

Orsenigo G., L'azione dell'ormone follicolare (Progynon) sui saccaromiceti. Riv. di Biol., *27*, (2), 260—267, (1939).

Oshima F., Aktinomykotischer Lungenabzess. (Jap.), Trans. jap. path. Soc., *29*, 81, (1939).

Ozzano T., Contributo alla roentgenterapia della tigna. Giorn. Batt. e Immunol., *2*, (3), 370—379, 4 figs., (1939).

Pallaske G., Mukormykose beim Schwein. Tierärztl. Rdsch., (31), 601, (1939).

Peck S. M., Rosenfeld H. and Glick A. W., Fungistatic power of blood serum. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications. p. 220, (1939).

Perpignano G., Le tigne della provincia di Cagliari. Giorn. Ital. Dermat. Sifil., (3), 489. (1939).

Pratt H. N., Mold spores content of the air in Boston. J. Pediatr., *14*, 234, (1939).

Prince H. E. and Betzer Morrow M., Studies by the association of allergists for mycological investigation: I. Variation in spore content of the air. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 75, (1939).

Puntoni V., La classificazione degli actinomiceti (Microsyphonales Vuill.) Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 30, (1939).

Rabello, Sporotrichosis fungoides: eine neue klinische Form mit Kultur von *Sporotrichum* (*Dematium*) *gougeroti*. Ann. brasil. Dermat. Syph., *13*, 143—145, (1938) [Portuguese with French summary. Abst. in Zbl. Haut- u. Geschlecht., *62*, (6—7), 365, (1939)].

Redaelli P. and Ciferri R., Comparison of processes in fungous infections of plants and animals. Blastomycosis, Sporotrichosis, and Coccidioidal granuloma. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communicatons, p. 220, (1939).

Redaelli P. and Ciferri R., Morphological and biological correlations of the Family Histoplasmaceae. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 208, (1939).

Reyer W., Ueber die Vermehrung von *Blastocystis* in der Kultur. Arch. Protistenk. 92, (2), 226—244, 2 pl., (1939).

Reutschler H. D. and Schleifley C. H., Fungous infections of the sinuses. Arch. Otoryng., Chicago, *29*, (1), 146—150, (1939). [*Aspergillus niger*].

Rossow G., Aktinomykose des Eierstocks. Zbl. f. Gynäk., (14), 757, (1939).

Roubaud E. et Deschiens R., Capture de larves infectieuses de Nématodes pathogènes par des champignons prédateurs du sol. C. R. Acad. Sci., Paris, *208*, (4), 245—247, (1939) [*Arthrobotrys oligospora, Dahtylella bembicodes*].

Silvano P. G. e Mussi G. F., Caso di blastomicosi da *Mycotorula Pinoyi* a manifestazione prevalentemente polmonare. Boll. Soc. Med. Bresciana, (2), 48, (1939).

Simonart P., La classification des *Aspergillus* ed *Penicillium* et leur métabolisme des nitrates. Third Intern. Congr. Microbiol. Abstracts of communications, p. 26, (1939).

Smith D. T., Treatment of systematic diseases produced by Fungi. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 212, (1939).

Stakman E. C., Comparison of processes of fungous infections in plants and animals. Natural resistence including immunity: plant kingdom. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communicatons, p. 217, (1939).

Storts B. P., Coccidioidal granuloma simulating brain tumor in a child of four years. J. Am. Med. Assoc., *112*, (14), 1334, (1939). [*Coccidioides immitis*].

Stovall W. D., Classifications and pathogenicity of species of *Monilia*. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 33, (1939).

Sulzberger M. B., Pascher F. and Satenstein D., Comparison of cutaneous reactions to fungous extracts (Trichophytin, Oidiomycin) and to Tubercolins (Old Tubercolin Koch and P.P.D.). Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 245, (1939).

Swarts J. H., Extensive neurodermite-like eruption caused by *Trichophyton rubrum*. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 245, (1939).

Talice R. V. and MacKinnon J. E., The asteroides form in spontaneous and experimental sporotrichosis. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 209, (1939).

Third International Congress of Microbiology, Abstracts of communications, I Vol., under the auspicies of the Intern. Assoc. of Microbiologists. New York, (1939).

Thjøtta Th., Hartmann O. and Bøe J., A study of the *Leptotrichia* Trevisan. History, morphology; biological and serological characteristics. Avhandlinger utgitt av Norske Videnskaps-Akademi i Oslo. I. Mat.-Naturv. Klasse 1939, N. 5, 41 pp., 8 figs., 18 plates. (Oslo, I. Kommisjon Hos J. Dybwad, 1939).

Thom C., *Aspergillus-Penicillium* relationships. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 25, (1939).

Tiffney W. N., The host range of *Saprolegnia parasitica*. Mycologia, *31*, (3), 310—321, 1 graph., (1939).

Timonin M. I., Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Buill. on Colorado potato beetle larvae. Canad. J. Res., Sct. B., *17*, (4), 103—107, 1 fig., (1939).

Tobler F., Das Wesen der Flechtensymbiose in heutiger Anschauung. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 220, (1939).

Uhr N., Bacterial endocarditis. Report of a case in which the cause was *Actinomyces bovis*. Arch. inter. med., *64*, (1), 84, (1939).

Urbain A. et Guillot G., Les aspergilloses aviaires. Rev. pathol. comp., *38*, (503), 929—955, (1938).

Venturi T., Un caso di dermatoendomicosi. Il Dermosifilografo, *13*, (7), 450, (1939). [*Mycotorula albicans*].

Verona O. L'inquadramento sistematico dei lieviti anascosporei a seguito dei più recenti studi. Giorn. Batt. e Immunol., *12*, (6), 995—1006, 2 tav., 1 graph., (1939).

Vonessen A., Ueber Abdominalaktinomykose mit besondere Berücksichtigung von weiblicher Genitalaktinomykose. Zbl. Gynäk., (14), 754, (1939).

Waksman S. A. and Umbreit W. W., On the classifications of Actinomycetes. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 28, (1939).

Walker J. C., Comparison of processes in fungous infections of plants and animals. Tissue reactions: plant kingdom. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 216, (1939).

Wegmann A., Ueber die Schimmelpilzerkrankung des Magens und der Speiseröhre. Ziegler's Beitrage, *102*, 577—582, (1939).

Weidman F. D., Comparison of processes in fungous infections of plants and animals. Etiology and pathogenesis: animal kingdom. Third Intern. Congr. Microbiol., Abstracts of communications, p. 214, (1939).

Welsch M., Bacteriolotic properties of *Actinomyces*. Third Intern. Congr. Microbiol. Abstracts of communications, p. 70, (1939).

Zuendel W., Die europäischen Epidermophytonpilze. Arch. Derm. Syph., Berlin, *179*, (1), 1—57, 36 figs., (1939). [*Epidermophyton inguinale, E. interdigitale, E. rubrum, E. plurizoniforme, E. lanoroseum, T. pedis*].

Index Nominum Mycetum.

Achorion 124, 172, 271.
— gallinae 172.
— gypseum 210.
— Quinckeanum 277, 279.
— Schönleini 124, 271, 272, 277, 278, 279, 301, 302, 305.
— violaceum 269, 302.
Acremoniella Perini 62.
Acrosporium 260.
Acrostalagmus cinnabarinus 322.
Actinobacillus 94, 96, 99, 105, 234.
— Ligniresi 298.
Actinobacterium 91, 92, 93, 94, 95, 96, 100, 102, 105, 145.
— Israëli 91.
— Israëli var. Spitzi 91.
Actinodiscomyces bovis 147.
Actinomyces 44, 45, 46, 87, 89, 90, 91, 95, 96, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 105, 132, 133, 136, 141, 153, 154, 201, 231, 233, 235, 237, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 305, 310, 313, 325.
— actinoides 100.
— actinomorphus 100.
— agreste 99.
— albus 101, 102, 131, 133, 145, 146, 147, 149, 151, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 160, 229, 230, 231.
— albus var. alpha 157.
— albus var. acidus 157.
— albus var. chretaceus 157.
— albus var. ochroleucus 157.
— albus var. toxica 157.
— albidoflavus 154, 160.
— alboviridis 158, 159.
— Alquisti 149, 154, 157, 161.
— americanus 100.
— anaerobies 100.
— asteroides 90, 146, 298.
— aureus 147, 154, 160.
— asteroides Eppingeri 236.
— bifidus 100.
— Bolognesi-Chiurcoi 44.
— Bostroemi 101, 147, 159.
— bovis 89, 101, 104, 146, 147, 159, 229, 231, 235, 298, 299.
— bovis albus 229.
— bovis sulphureus 229.
— canis 101.
— caprae 101, 299.
— cellulosae 132, 133.
— chromogenus 145, 146, 149, 155, 156, 157, 160, 161.
— chromogenus var. alba 157.
— chromogenus var. ochroleucus 155.
— crystallophagus 99.
— cunicoli 100.
— cilindraceus 100.
— carneus 100, 101.
— discofoliatus 100, 296.
— Eppingeri 231.
— erythropolis 9.
— flavus 146, 154.
— farcinicus 101, 147, 154, 160, 231, 235.
— glaucus 156.
— Gougeroti 149, 154, 157, 161.
— graminearum 149.
— griseus 131, 133, 146, 151.
— hominis 92, 101, 145, 159, 160, 298.
— innominatus 145, 160.
— Israëli 92, 95, 100, 228, 229, 230, 296, 297.
— Israëli var. Spitzi 100.
— lavandulae 158.
— leproides 100.
— lepromicola 100.
— Lieskei 147.
— luteo-roseus 101.
— maculatus 86.
— Madurae 101, 228, 231.
— melanocyclus 132.
— melanosporeus 101, 132, 300.
— microflavus 101.
— monosporus 101, 156.
— necrophorus 100, 296.
— Neschczadimenki 100.
— odorifer 145, 148, 155, 156, 160.
— paraguayensis 201, 202, 203.
— pulmonalis 228, 229.
— Quensland 231.
— Sanfelicei 231, 232.
— sanguinis 296.
— Sanninii 147, 149, 161.
— saprophyticus 153, 155, 156.
— scabies 101, 146.
— Silberschmidti 100.
— sulphureus 101.
— tenuis 100, 305.
— thermodiastaticus 149, 157.
— thermophylus 145, 149, 155, 156, 157, 160, 161.
— Thiebiergei 100, 228, 230.
— Thioettae 106.
— viridis 145, 158, 159, 160.
— viridochromogenes 145, 158, 159, 160.
— violaceus 131, 133, 151.
— Wolff-Israëli 296, 297.

Actinomyces Zopfi 231.
Actinomycoides 95.
Aërothrix 86 ,102, 104.
Alysiella 112.
Alternaria 132, 306, 308.
— tenuis 309.
— vitis 306.
Anabaeniolum 112.
Arthromitus 113.
Ashbya 323.
— gossypii 323, 324.
Aspergillus 15, 124, 132, 164, 260, 261, 262, 263, 280, 301, 308, 311.
— flavus 310.
— fumigatus 128.
— fuscus 129.
— glaucus 310.
— nidulans 310.
— niger 15, 210, 305, 309, 310.
— oryzae 309, 310.
— terreus 15, 127, 128, 129.
Asteroides 100, 154.
— asteroides 100.
— Lieskeyi 100.
— pseudocarneus 100.
— Puntonii 100.
Atelosaccharomyces pseudotropicalis 80, 81.

Bacillus bifidus 93.
— endoparasiticus 277, 308, 309.
— mycoides corallinus 99.
Beauveria Bassiana 322, 323, 324.
Blastocystis 239, 250, 252.
— ranarum 239.
Blastodendrion 50, 81 122, 253, 288.
— Braulti 271.
— Flareri 257.
— globosum 124.
— intermedium 256, 262, 263.
— macedoniense 30, 36.
Blastomyces 294.
— dermatitidis 294.
Botrytis 16, 39, 40, 41, 164, 260.
— Bassiana 40.
— cinerea 323, 324.
— infestans 41.
— paradoxa 40.
Brachysporium 16.
Brettanomyces 6.
Brevistreptothrix 87, 91, 92, 104.
— Spitzi 91.

Cadophora 301.
Candida 2, 3, 4, 5, 6, 30, 73, 74, 80, 122, 123, 124, 237, 253, 255, 261, 262, 263, 264, 288, 289, 304.
— albicans 5, 256, 262, 264, 289.
— Aldoi 256, 259.
— azymatique 289.
— Brumpti 257, 259, 289.
— Chalmersi 256, 257, 259.
— deformans 257, 259.
— Flareri 257, 259.
— Guilliermondi 255, 256, 257, 289.
— Krusei 6, 261, 289.
— intermedia 256, 259, 263.
— Lodderi 257.
— macedoniensis 30, 32, 33, 36, 261.
— macedoniensis var. macedoniensoides 30, 36.
— metalondinensis 261.
— mycotoruloidea 237.
— parakrusei 6, 256, 257, 264, 289.
— parapsilosis 255.
— pelliculosa 6, 35, 36, 257, 259.
— pseudotropicalis 6, 30, 33, 36, 81, 259, 289.
— suaveolens 257, 259.
— triadis 256, 258, 259.
— tropicalis 6, 82, 83, 256, 259, 261, 262, 263, 264, 289.
— vulgaris 261, 262, 263, 264.
— zeylanoides 257, 259.
Catenularia 162.
— fuliginea 162.
Castellania Guilliermondi 77.
— pseudotropicalis 80, 81.
Cephalosporium 60, 63, 64, 65, 66, 124, 165, 169, 170, 306.
— acremonium 65, 165, 322.
— asteroides griseus Grützi 165.
— Bogolepoffi 166.
— cerebriformis 322.
— Dougourei 65, 66, 166.
— griseum 65, 66, 166, 169, 170.
— Gruetzi 322.
— Hartmanni 63.
— kiliense 65.
— keratoplasticum 66, 67, 166, 169, 170.
— niveolanosum 65, 165.
— nigrum 66, 166, 306.
— pseudofermentum 65, 166.
— Recifei 65, 165, 170.
— rubrobrunneum 65.
— rubrobrunneum cerebriforme 165.
— Serrae 64, 65, 165.
— spinosum 63, 65, 166.
— Stühmeri 65, 166.
Chaetomium 16, 308.
Chlorella variegata 250.
Citosporina 15, 16.
Cladosporium 164, 174, 306, 309.
— fulvum 309.
— herbarum 306.
— Mansoni 306.
— Wernecki 274, 306.
Cladothrix asteroides 100.
— dichotoma 149, 153, 155, 156, 160.
— invulnerabilis 149, 153, 157, 160.
— odorifera 149, 155, 157, 160.
— liquefaciens 153, 157.
Coccidioides 292, 293, 294, 311.
— immitis 291, 292, 293, 294, 305, 322, 323, 324, 325.
Cohnistreptothrix 91, 92, 95, 96, 99, 100, 102, 105, 145.
— Israëli 271.
— Foersteri 100.
— tenuis 305.
Collectotrichum 15, 16.
Corynebacterium 85, 93, 94, 95, 96, 100, 102, 103, 105, 237, 297.
— Israëli 297.

Cryptococcus 253, 287, 288, 305, 307.
— histolyticus 290.
— hominis 289.
— linguae pilosae 77.
— Montpellieri 271.

Debaryomyces 29, 35, 36, 289, 307.
— Fabryi 322.
— Matruchoti 36.
— neoformans 49, 83.
Dematium 132, 274, 308.
Diaporthe 15.
Discomyces 300.
— brasiliensis 100.
— equi 101.
Distasoa 95, 100.

Ectotrichophyton mentagrophytes var. radiolatum 274.
Enantiothamnus 122, 253.
Endodermophyton 63, 272, 303.
Endomyces 31, 32, 118, 119, 121, 124, 288, 291.
— albicans 116, 118, 119, 120, 121, 264.
— bonaerensis 120, 121.
— Cruzi 119, 120, 121.
— Guilliermondi 77.
— pseudotropicalis 80, 81.
— pulmonalis 119, 120, 121.
— Vuillemini 116, 118, 119, 120, 121.
Endomycopsis 32.
— albicans 120.
Epidermophyton 124, 271, 272, 273, 277, 318.
— cruris 307.
— floccosum 307.
— gypseum flavum 273.
— inguinale 273, 304, 305, 307.
— interdigitale 279, 281, 282, 302, 303, 305.
— Kaufmann-Wolff 210, 277, 281.
— luteum 273.
— pernetti 302.
— purpureum 282.
— rubrum 273, 280.
— simii 317, 319.
— sulfureum 273.
Erysipelothrix 94, 96, 105.
Eumonilia 253.
Eurotium 16, 124.
— herbariorum 15.

Favotrichophyton album 273.
— album var. singulare 273.
— singulare 273.
Flavobacterium salmonicolor 99.
Fusarium 15, 16, 93, 87, 164.
— Moronei 322.
Fusiformis 94, 95, 96, 105.

Geotrichoides 2, 5, 124, 253.
— Krusei 124.
— tumefaciens 124.
— vulgaris 262, 263.
Geotrichum 5, 46, 57, 73, 89, 253.
— candidum 322.
— candidum var. parasiticum 322.
Gibberella 16.
Gilchristia 325.
— dermatitidis 323, 324.
Gleosporium ciclaminis 323, 324.
Guilliermondiella Vuillemini 120.

Hansenula 29, 33, 34, 35, 307.
— anomala 35, 36, 322.
— javanica 35, 36.
Helicoma 45.
Helicoon 45.
Helmintosporium 15, 16.
Hemispora rugosa 162.
— stellata 45, 162.
Heterosporium 15.
Histoplasma 325.
Hormodendron 291.
— cladosporioides 309.
— Pedrosoi 291.
— algeriense 271.
Hyalopus 65, 66.
— anoma 66.
— onychophylus 66.

Indiella 325.
— Mansoni 301.
— Regnieri 301.
— somaliensis 301.

Leptotrichia 94, 95, 96, 99, 101, 105.
Leptothrix 77, 101, 298, 299.
— ochracea 307.

Macrosporium 308.
Madurella 301, 325.
— lackawanna 301.
— mycetomi 301.
Malbranchea 43, 44, 45, 46, 86, 89, 94.
— Bolognesi-Chiurcoi 43, 44, 46, 228, 307.
— Kambayashii 43, 46.
— pulchella 43, 46.
Malleomyces 95.
Malassezia furfur 306.
Micrococcus 306.
— myceticus 306.
— nigrescens 305.
Micromonospora 85, 86, 87, 93, 95, 96, 98, 101, 105.
— chalceae 101.
— cerulea 101, 156.
— fusca 101.
— parva 101.
Microsporon 277, 285.
— Auduinii 124, 171, 172, 271, 272, 312, 322.
— canis 272.
— furfur 271, 306.
— lanosum 269, 271, 278, 305, 312.
— minutissimum 270, 310.
— pubescens 172.
— tardum 172.
— umbonatum 172.
— velveticum 172.
Microsporum 271, 272, 277, 278, 304.
— equinum 278.
— felineum 305, 312.
— simiae 317.
— Stilliansi 277.

Monilia 1, 2, 4, 30, 35, 36, 73, 74, 80, 118, 124, 253, 254, 255, 260, 261, 263, 275, 287, 291, 305, 310, 311.
— albicans 80, 81, 116, 118, 121, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 275, 287, 288, 290, 291, 304.
— Ashfordi 257.
— aurea 253, 260.
— Bonordeni 260, 262.
— candida 74, 80, 253, 254, 256, 257, 260, 261, 262, 263, 287, 291.
— cinerea 260.
— fructigena 260.
— glauca 260.
— gracilis 124.
— Guilliermondi 75, 76, 77, 255, 259, 264.
— inexpectata 124.
— javanica 33, 34, 35, 36.
— Krusei 80, 253, 254, 256, 259, 264, 287.
— macedoniensis 30, 32, 36, 80.
— macedoniensis var. macedoniensoides 30, 31, 36.
— metalondinensis 80.
— mortifera 254, 255, 256.
— Muhira 77.
— onycophyla 124.
— oosporoides 124.
— parakrusei 255, 256, 259.
— parapsilosis 253, 254, 255, 256, 287, 288
— paratropicalis 78.
— periunguealis 124.
— Pinoyi 80.
— procerus 124.
— pseudotropicalis 30, 33, 36, 80, 81, 82, 83, 255, 256, 259, 264.
— psilosis 80, 290.
— pullulans 260.
— rosea 260.
— stellatoidea 254, 256, 258, 259, 264, 287.
— tropicalis 80, 255, 256, 259, 262, 263, 264, 286, 302.
— variabilis 80, 260.
Mucor 132, 280, 308.
— genevensis 15.
— mucedo 210.
— racemosus 322.
Myceloblastanon 253, 288.
— gifuense 35, 36.
— Guilliermondi 77.
— pseudotropicalis 80, 81.
Mycelorrhizodes 253.
Mycobacterium 85, 93, 94, 96, 100, 102, 103, 105, 237, 297.
— actinomorphus 100.
— agreste 99.
— asterioides 100.
— crystallophagum 99
— erythropolis 99
— leprae 100.
— mesentericus 99.
— opacum 99.
— salmonicolor 99.
— tuberculosis 217, 235.
Mycocandida 80, 81, 122, 253.
— morftifera 255.
— Pinoyisimilis var. Citelliana 29, 30, 36.
Mycocandida pseudotropicalis 30, 33, 80, 81, 82, 83.
Mycoderma 83, 308.
Mycotorula 3, 48, 49, 73, 74, 76, 77, 78, 83, 117, 119, 122, 123, 124, 253, 264, 288, 304.
— albicans 2, 12, 14, 20, 21, 80, 82, 83, 116, 118, 119, 120, 262, 264, 286, 290, 304.
— albicans var. Vuillemini 120, 264.
— deformans 124.
— Guilliermondi 75, 76, 78, 79.
— intermedia 6.
— macedoniensis 33.
— mucinosa 49, 51.
— zeylanoides 48.
Mycotoruloides 48, 49, 81, 117, 122, 124, 253, 264.
— Aldoi 256.
— onychophylum 124.
— triadis 256.

Nocardia 87, 89, 236.
— bovis 300.
— Bruni 160.
— asteroides 235.
— Eppingeri 235, 236.
— farcinica 85.
— Foersteri 145.
— Foulertoni 160.
— Madurae 236, 271.
— Rivieri 101.
— Sanfelicei 232, 235.
— silvodorifera 148.
— tenuis 77, 305.
Nematospora 323.
— coryli 323, 324.
— faseoli 323, 324.

Oidium 3, 89.
— albicans 3, 80.
— aureum, 260.
— Tuckeri 41.
Oospora 89, 124, 157, 162, 261.
— alpha 157.
— Arthuri 262.
— aurea 260.
— sp. Bodin 157.
— bronchialis 228.
— candida 260, 261.
— catharralis 228.
— cinerea 262.
— d'Agatae 162.
— Doriae 153, 157.
— fructigena 260, 262.
— Guignardi 157.
— hominis 159.
— lingualis 77.
— Metchnikowi 157.
— ochracea 162.
— pulmonalis 228.
— pulmonalis var. chromogena 228.
Oosporidium 5.
Ophiobolus 15, 16.
Oscillatoria 112, 113, 115.
— enterica 107, 114, 115.
— intestini 113.
— profunda 113, 115.

Oscillospira 112.
— Guilliermondi 110, 113.

Paracoccidioides 295.
— brasiliensis 295, 323, 324, 325.
— cerebriformis 295.
Parasaccharomyces 263.
— Ashfordi 257.
— Sambergeri 263.
Parendomyces albus 49, 119.
— Vuillemini 120.
Penicillium 124, 132, 260, 262, 280, 310.
— expansum 309.
— digitatum 309.
— funicolosum 303.
— italicum 309.
Pericystis alvei 323, 324.
— apis 323, 324.
Pfeifferella 49, 95, 96, 105.
Phialophora 228, 301.
— verrucosa 301, 323, 324.
Phytophtora 15, 41.
Phomopsis 16.
Pichia 83 .
Piedraia Hortai 7, 11.
— Venezuelensis 7.
Pinoyella 317.
— simii 317, 319.
Pionnothrix 87, 102, 104.
Pyronema 16.
Pityrosporon, 255, 308.
— Malassez 275.
— ovale 307, 308.
Proactinomyces 87, 91, 92, 93, 95, 96, 98, 99, 100, 101, 102, 105, 148, 154.
— actinomorphum 100.
— agreste 99.
— asteroides 100, 154.
— corallinus 99.
— erythropolis 99.
— flavescens 99.
— Israëli 87, 92.
— Lieskei 100, 133.
— mesentericus 99.
— minimus 100.
— opacus 99.
— paraffinae 99.
— polychromogenes 99.
— Puntonii 100.
— pseudocarneus 100.
— salmonicolor 99.
Proteomyces 5.
Prototheca 248, 249.
— portoricensis 250.
Pseudomycoderma 253.
Pseudomonilia 253.
Puccinia 16.
— graminis 15.
— graminis tritici 15.
Pullularia 274.

Redaellia 122, 253.
Rhinocladium Beurmanni 271, 296.
Rhinosporidium 311.
— Seeberi 323, 324.
Rhizopus 308.
— niger 77.
— nigricans 309.
Rhodococcus 306.
Rhodotorula 288.

Sabouraudites 274.
— ruber 274.
Saccharomyces 29, 30, 31, 32, 34, 253, 291, 307, 310.
— exiguus 32.
— fragilis 29, 30, 33, 36, 82.
— fragrans 32, 33.
— ellipsoideus 286.
— macedoniensis 32, 33, 36.
— Mangini 32.
— validus 287.
Schizosaccharomyces hominis 288, 308, 309.
Schizosphaeromyces 250.
Sclerotinia 260, 261.
Sclerothrix 96.
Scopulariopsis 124, 132.
— brevicaulis 322.
— simplex 162.
Septoria 16.
Serratia corallina 99.
Simonsiella 112.
Spermatophtora 323.
Sphaeropsis 16.
Sporendonema 45, 46, 162.
— casei 46.
— epizoum 45, 162, 322.
— sebi 162.
Sporobolomyces salmonicolor 51.
— salmonicolor var. typicus 51.
— shibatanus 51.
Sporotrichum 124, 228, 229, 291, 295, 310, 322.
— asteroides 302.
— Beurmanni 217, 227, 228, 229, 322, 323, 324.
— Councilmanni 322.
— Gougeroti 229, 322.
— poae 322.
— pruinosum 322.
— Schencki 302.
Sterygmatocystis cinnamominus 129.
— Hortai 129.
— nidulans 301.
— veneta 127, 129.
Streptothrix 89, 100, 145, 230, 235, 236, 237, 301.
— alba 146, 149, 154, 157.
— albidoflava 154.
— albo-flava 147, 154.
— alpha 153.
— aurantiaca 100.
— candida 149, 157.
— chalcea 85, 98, 101, 103.
— Dassonvillei 153, 157.
— Foersteri 145, 149, 155, 156.
— freeri 100.
— gedanensis 149, 153, 157.
— graminearum 157.
— hominis 159, 160.
— Israëli 296.
— Lathridii 149, 157.

Streptothrix leucea 153, 157.
— nigra 155, 157.
— polychromogenes 99.
— putorii 229.
— pyogenes 153, 157.
— Sanfelicei 236.
— Sanninii 154, 157.
— viridis 158.
Syringospora 3, 73, 264, 265.
— Robini 3, 264.

Thamnidium 16.
Thermoidium 46.
Tisseria 95.
— bifida 95.
Torula 126, 162, 260, 274, 291, 308, 310.
— epizoa 162.
— epizoa var. muriae 162.
— fuliginea 162.
— pulchra 162.
— rubiginosa 162.
— rubra 302.
— rufescens 162.
— sacchari 162.
— saccharina 162.
Torulopsis 1, 124, 126, 307.
— albida 50.
— minor 50.
Trichoderma 130, 132.
— koeningi 309.
Trichosporon 3, 5, 57, 58, 253, 263.
— Ashii 322.
— ovoides 4.
— pararugosum 57.
— proteolyticum 52, 57, 58, 59.
— rugosum 57.
— Uffreduzzii 57.
Trichosporum 10.
— giganteum 7, 10, 11.
— humahuaquensis 10, 11.
— venezuelensis 7.
Trichophyton 124, 170, 171, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 285, 302, 303, 307, 312, 318, 319.
— acuminatum 173, 174, 271.
— album 173, 174.
— asteroides 174, 271.
— caninum 174.
— cerebriforme 173, 174.
— ceylonense 274.
— circonvolutum 173, 174.
— crateriforme 173, 174, 269, 271, 302.
— denticulatum 173, 174.
— discoides 173, 174.
— effractum 173, 174.
— equinum 174.
— exiccatum 174.
— farinulentum 173, 174.
— faviforme 269.
— faviforme album 273, 274.
— fumatum 173, 174.
— glabrun 173, 174, 271, 273.
— granulosum 172, 271.
— gypseum 63, 273, 274, 277, 301. 302, 304, 305, 307.
— gypseum asteroides 312.
— gypseum lacticolor 274, 318.
— interdigitale 271, 273, 281.
— lacticolor 174, 271.
— mentagrophytes 317, 318, 319.
— ochraceum 173, 174.
— persicolor 173, 174.
— pilosum 173, 174.
— plicatile 173, 174.
— polygonum 174.
— purpureum 271, 273, 274, 280.
— radians 173, 174.
— regulare 173, 174.
— rosaceum 173, 174.
— roseum 322.
— rubrum 273, 307.
— sulphureum 174.
— tonsurans 272.
— umbilicatum 173, 174.
— vinosum 173, 174.
— violaceum 173, 174, 271, 272. 273, 274, 302, 305.

Ustilago 15, 16.
— zeae 15.

Willia 34, 307.

Zymonema 57, 120.
— bonearense 120.
— pulmonalis membranogenes 57.